F. FUHRMANN

EINFÜHRUNG IN DIE GRUNDLAGEN DER TECHNISCHEN MYKOLOGIE

ZWEITE AUFLAGE

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER

UNIVERSITY
OF
TORONTO
LIBRARY

Bot
Thalloph
F

Einführung in die Grundlagen der technischen Mykologie

Von

Prof. Dr. Franz Fuhrmann

Vorstand der Lehrkanzel für technische Mykologie und Chemie der Nahrungs- und Genußmittel an der Technischen Hochschule in Graz

Zweite Auflage der Vorlesungen über technische Mykologie

Mit 169 Abbildungen im Text

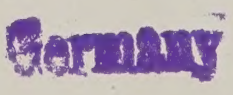
202109
21. 4. 26.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

1926

Alle Rechte vorbehalten.
Copyright 1926 by Gustav Fischer
Publisher, Jena.

Weimar. — Druck von R. Wagner Sohn



Vorwort.

Aus Gründen einer besseren Übersicht und eines engeren Zusammenhanges hat der Verfasser die im Jahre 1913 erschienenen „Vorlesungen über technische Mykologie" nunmehr in zweiter Auflage als „Einführung in die technische Mykologie" herausgegeben. Dieser Titel soll noch deutlicher zum Ausdruck bringen, daß das vorliegende Buch in erster Linie dazu bestimmt ist, angehende Mykologen und überhaupt Studierende der Naturwissenschaften in die Lehre von den Lebenserscheinungen und der Lebenstätigkeit der Mikroorganismen einzuführen.

Der Verfasser hat es vermieden, Literaturangaben einzuflechten und allzusehr Einzelheiten zu bringen. Er war vielmehr bestrebt, den Gegenstand allgemein grundlegend zu behandeln und nach Möglichkeit die Zusammenhänge herauszuarbeiten. Der mykologische Fachmann wird deshalb in der vorliegenden „Einführung" manche wissenschaftlich interessanten Probleme und neuesten Anschauungen vermissen.

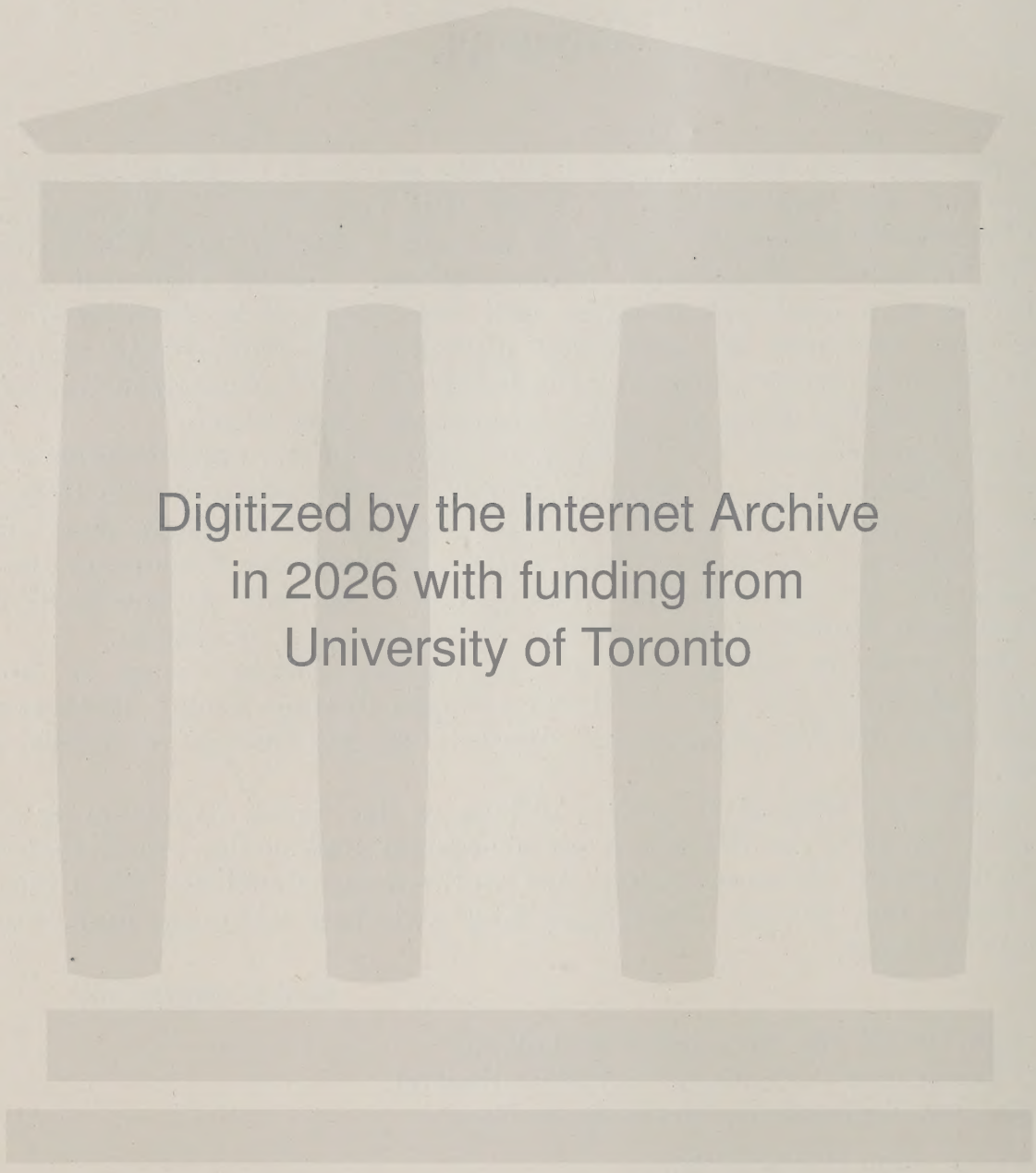
Der Verfasser erfüllt nur eine angenehme Pflicht, wenn er dem Verlage Gustav Fischer in Jena für sein überaus großes Entgegenkommen bei der Herausgabe und Ausstattung des Buches verbindlichst dankt.

Auch die vorliegende zweite Auflage in der neuen Aufmachung sei mit dem Wunsche der Öffentlichkeit übergeben, daß sie den Studierenden der biologischen Wissenschaften eine naturwissenschaftliche Basis biete und ihnen den innigen Zusammenhang zwischen lebender und toter Materie aufzeige.

Franz Fuhrmann.

Lehrkanzel für technische Mykologie
und Chemie der Nahrungs- und Genußmittel
an der Technischen Hochschule Graz,

im Herbst 1925.


Digitized by the Internet Archive
in 2026 with funding from
University of Toronto

https://archive.org/details/einfhrungindiegr00fuhr

Inhaltsübersicht.

Seite

Einleitung: Geschichte der technischen Mykologie 1

Leuwenhoeks Entdeckung. — Urzeugung. — Gärung. — Ferment. — Cohns System der Bakterien. — Hefen.

I. Abschnitt: Morphologie. Physiologie und Systematik der Schizomyzeten 16

1. Morphologie der vegetativen Bakterienzelle 16

A. Zellform 16
B. Größe der Bakterien 21
C. Involutionsformen 23
D. Teratologische Wuchsformen 24
E. Verzweigte Formen 25
F. Pleomorphie 26
G. Bau der Bakterienzelle 27

2. Vermehrung der Bakterien 45

A. Teilung der Bakterien 45
B. Wuchsverbände der Bakterien 48
C. Entwicklungskreis der Bakterien 55
D. Bildung der Bakteriensporen 59
E. Bildung der Bakterienkonodien 63
F. Form, Größe und feinerer Bau der Bakteriensporen 65

3. Chemie der Bakterienzelle 74

A. Wassergehalt der Bakterienzelle 74
B. Trockensubstanz der Bakterienzelle 75
1. Mineralische Trockensubstanz 76
2. Organische Trockensubstanz 78
3. Kohlehydrate 82
4. Fett 82
5. Enzyme (Fermente) 83
6. Bakterientoxine 108
7. Bakterienfarbstoffe 109
8. Leuchten der Bakterien 114

4. Physikalische Eigenschaften der Bakterienzelle 119

A. Spezifisches Gewicht 119
B. Lichtbrechungsvermögen 120
C. Osmotischer Druck 120
D. Bewegung der Bakterien 123

5. Physiologie der Bakterienernährung 133

1. Nahrungsstoffe der Bakterien 134
2. Nahrung der Bakterien 143
3. Physikalische Einflüsse auf das Bakterienwachstum 149

Seite

4. Baustoffwechsel der Bakterien 155
5. Betriebsstoffwechsel der Bakterien 160

6. System der Bakterien 169

II. Abschnitt: Morphologie, Physiologie und Systematik der Hefepilze 179

1. Morphologie der vegetativen Hefezelle 179

A. Zellform 179
B. Zellgröße 182
C. Bau der vegetativen Hefezelle 182
a) Protoplasmatische Organe der Hefezelle 182
b) Ergastische Gebilde 188
D. Vermehrung und Wuchsverbände der Hefezellen 193

2. Bildung, Bau und Keimung der Hefesporen 196

A. Bau der Hefesporen 199
B. Keimung der Hefesporen 201

3. Chemie der Hefezelle 204

A. Wassergehalt der Hefe 204
B. Aschengehalt der Hefe 204
C. Chemie der Hefezellwand 206
D. Chemie des Zellinnern 206

4. Physiologie und Biologie der Hefe 213

A. Anorganische Nahrungsstoffe 213
B. Organische Nahrungsstoffe 214
C. Stoffwechsel der Hefe 218
D. Alkoholische Hefegärung 221
E. Biologie der Hefe 230

Anhang zur Physiologie der Hefe 234

1. Kahmhefen und Torulaarten 234
2. Reinhaltung der Betriebshefe 238
3. Hefereinzucht im großen 239
F. System der Hefen und der saccharomyzesähnlichen Pilze 245

III. Abschnitt: Morphologie und Physiologie der Schimmelpilze 261

IV. Abschnitt: Bakterielle Umsetzungen 278

A. Fäulnis und Verwesung 278
B. Bakterielle Spaltung von Säureamiden und Purinen 287
1. Harnstoffgärung 287
2. Vergärung von Harnstoffderivaten 288
3. Gärung des Asparagins 289
4. Hippursäuregärung 289
5. Spaltung des Kalkstickstoffes 290
C. Nitrifikation 291
D. Denitrifikation 295
E. Stickstoffbindung 298
1. Knöllchenbakterien der Leguminosen 298
2. Stickstoffbindung durch freilebende Bakterien 308
F. Bakterien der Milch 313
1. Menge und allgemeine Charakteristik der Bakterien der Kuhmilch . 313
2. Milchsäurebakterien 320

Seite

3. Bakterien der Milchfehler 326
4. Bakterien der Milchprodukte 328

G. Ameisensäuregärung 341
H. Essigsäuregärung 342

1. Biologie der Essigsäurebakterien 342
2. Einteilung der Essigsäurebakterien 350
3. Essigsäurebakterien im Betrieb 363
4. Herstellung der Essigarten 369
5. Schädlinge der Gärungsessigerzeugung 370

I. Buttersäuregärung 371
K. Zellulosegärung 374
L. Pektingärung 383
M. Bakterielle Zersetzungen unter Wärmeentwicklung 388

A. Selbsterhitzung 388
B. Braunheu und Brennheu 392
C. Tabakfermentation 395
D. Kaffee- und Kakaofermentation 397
E. Tee- und Vanillefermentation 399

N. Fadenziehen des Brotes 400
O. Bakterien in der Zuckerfabrikation 406
P. Senfgärung und Senfzersetzung 415
Q. Farbstoffgärungen 417
R. Gerberei 419
S. Schwefelbakterien 425
T. Eisenbakterien 433

V. Abschnitt: Umsetzungen durch Bakterien und Hefen 439

A. Einsäuerung der Gemüse 439
1. Sauerkraut 440
2. Säuerung von Gurken 443
3. Säuerung von Erbsen, Tomaten und Äpfeln 444

B. Mehlteiggärung 445
C. Durch Bakterien und Hefen vergorene Getränke 447

1. Mazun 447
2. Yoghurt 448
3. Kefir 449
4. Kumiß 452
5. Lambic, Faro, Mars und Kriekenbier 453
6. Kwaß und verwandte Getränke 455
7. Ginger-beer 457
8. Tibi 457
9. Negerbier 457
10. Malton- und Malzwein 458

VI. Abschnitt: Umsetzungen durch Hefe 459

1. Bier 459
2. Wein 464
3. Brennerei 473
4. Preßhefe 482
5. Rumbrennerei 485

VII. Abschnitt: Gemischte Gärung durch Hefen und Schimmelpilze 487

1. Chinesischer Reisbranntwein 487
2. Javanischer Arrak 488
3. Awamori 490
4. Batatenbranntwein 490

Seite

VIII. Abschnitt: Entkeimung und Konservierung 492

1. Die physikalische Entkeimung 492
2. Entkeimung durch Licht 495
3. Entkeimung durch chemische Mittel 496
4. Infektionsverhütung 503

IX. Abschnitt: Konservierung von Nahrungsmitteln . . . 505

X. Abschnitt: Mykologie des Wassers 518

1. Mykologie des Trinkwassers 518
2. Selbstreinigung des Wassers und Abwassermykologie 522

Sachregister 534

Druckfehlerverzeichnis 554

Einleitung.

Geschichte der technischen Mykologie.

Man wird nicht fehlgehen, wenn man die ersten Anfänge des bewußten Gebrauches von Gärungen bei der Herstellung von verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln in das graue Altertum verlegt. Die durch Gärung bewerkstelligte Wein- und Bierbereitung ist beispielsweise eine der ältesten Erfindungen der Menschheit, zurückgeführt auf Götter. So haben die alten Ägypter ihren Gott Osiris unter anderem auch dafür verehrt, daß er sie die Herstellung des Bieres gelehrt hat. Die Griechen weihte Gott Bacchus in die Geheimnisse der Weinkelterei ein. Man kennt also die praktische Einleitung und Durchführung solcher geistige Getränke haltbar und gar machender Gärungen schon sehr lange, ohne aber sich über die dabei auftretenden Vorgänge irgendeine Vorstellung zu bilden und die Ursache dieser Umsetzung richtig zu deuten.

Der Begriff „Gärung" umfaßt ursprünglich jene Vorgänge, durch die spontan eine Verbesserung und Fertigstellung, Garmachung von Nahrungs- und Genußmitteln erreicht wird. In der Gelehrtensprache bürgerte sich dafür der Name Fermentatio ein, der später durch die Alchimisten eine sehr weite Fassung bekommen hat und zu ganz widersinnigen Begriffsverwirrungen führen mußte. So arteten im 15. und 16. Jahrhundert Meinungsverschiedenheiten über das Wesen der Gärung in müßige Wortgefechte aus, was schließlich zu einem Zusammenwerfen von Fermentatio (Gärung) und Digestio (Verdauung) führte und unter den Begriffen dieser beiden alles fallen ließ, was überhaupt bei stofflicher Umsetzung der organischen und anorganischen Welt irgendwie in Erscheinung tritt.

Man beschrieb ganz richtig zahlreiche bei der Gärung sich einstellende Erscheinungen, z. B. das Auftreten von starken Schaumbildungen beim Einsetzen der Gärung von Traubensaft, das Nachlassen des Schäumens unter gleichzeitiger Abscheidung eines Bodensatzes in beträchtlicher Menge. Darnach verursachte die Gärung eine Reinigung, durch die die in Gärung geratene Flüssigkeit wesentlich verbessert, von Schmutz befreit und rein und geistig geworden ist. Der Alchimist und Mönch Basilius Valentinus bezeichnet den bei der Wein- und Biergärung sich bildenden Bodensatz im obigen Sinne geradezu als faeces vini, bzw.

cerevisiae, also Kot des Weines und Bieres, um damit die Gärung geradezu als Reinigungsprozeß zu charakterisieren. Zu Beginn des 16. Jahrhunderts finden wir auch schon als Namen für die Körper, welche angeblich die Gärung verursachen, das Wort „Ferment", womit man im weitesten Sinne des Wortes jedweden Stoff bezeichnete, welcher irgendwelche chemische Reaktion auszulösen imstande sei. Kopp schildert in seiner „Geschichte der Chemie" ausführlich das trostlose Durcheinander in der Lehre von der Gärung zur damaligen Zeit.

Im 17. Jahrhundert haben deutsche Alchimisten neue Gedanken in die Lehre von der Gärung hineingebracht und wenigstens eine reinliche Scheidung von „fermentatio" und „putrefactio" (Fäulnis) herbeizuführen gesucht, indem sie unter ersterer nur das Gärungsprodukt verbessernde und unter letzterer verschlechternde Vorgänge zusammenfaßten. Joachim Becker unterscheidet übrigens schon zwischen einer wallenden, geistigen (also alkoholischen) und sauren Gärung.

Ungefähr in dieselbe Zeit fällt auch die Entstehung einer mechanischen Gärungstheorie, die aber mit unserer heutigen energetischen Auffassung solcher Vorgänge nicht das geringste zu tun hat. Der englische Chemiker Th. Willis definierte im 17. Jahrhundert das Ferment als einen innerlich bewegten Körper, der seine Bewegung auf gärungsfähige Stoffe überträgt und dadurch die Gärung durchführt. Fast die gleiche Erklärung der Gärung findet man in der Zymotechnia fundamentalis von Georg Ernst Stahl aus der zweiten Hälfte des 17. Jahrhunderts, worin nach der im Jahre 1748 erschienenen deutschen Übersetzung steht: „Die Fermentation ist eine innerliche Bewegung, wodurch verschiedene, nicht gar zu fest verknüpfte Zusammensetzungen, vermittelst einer dahin dienlichen Feuchtigkeit ergriffen und durch langwieriges Untereinandertreiben an einander gerieben und gestoßen werden, wesfalls die Verknüpfung des gegenwärtigen Zusammenhanges voneinander gerissen, die abgerissenen Teilchen aber durch das stetige Reiben verdünnet und in eine neue und zwar stärkere Verbindung versetzet werden."

Am 24. Oktober 1632 wurde zu Delft in Holland Antoni van Leeuwenhoek geboren. Als Sechzehnjähriger trat er in ein Schnittwarengeschäft zu Amsterdam als Lehrling ein, wo er es in Kürze bis zum Kassierer brachte. Er gab dann seine Stelle auf und lebte einige Zeit als Privatmann in Delft, um später ein Amt in der Stadtverwaltung anzunehmen. Schon als Lehrling befaßte er sich in seinen freien Stunden mit der mühevollen und schwierigen Herstellung kleinster Glaslinsen, die er passend in Gold- oder Silberplättchen faßte und dann zur Untersuchung der verschiedensten Substrate verwendete.

Die besten seiner Linsen hatten eine ungefähr hundertsechzigfache lineare Vergrößerung und waren leistungsfähiger als die damals schon erfundenen zusammengesetzten Mikroskope, die nur für die Beobachtung im auffallenden Licht eingerichtet waren. Leeuwenhoek untersuchte damit zahlreiche Substrate, wie Regenwasser, Zahnschleim, Fäzes, Faulflüssigkeiten und dergleichen mehr und beobachtete darin kleinste „Tierchen" von verschiedener Größe, Gestalt und Beweglichkeit. Über diese Beobachtungen, die er vielfach mit Zeichnungen belegte, berichtete er in Form von Briefen an die Royal Society zu London.

Schon sein erster Brief vom 28. April 1673 berichtet über zarte, fädige Gebilde, einen Schimmel, der sich auf Fleisch und anderen zur Untersuchung gelangten Substraten angesiedelt hatte. In den Briefen vom 14. Juni und 12. November 1680 finden wir eine Beschreibung der Bierhefe, Weinhefe und anderer ähnlicher Gebilde aus gärenden Flüssigkeiten. Von besonderer Bedeutung ist Leeuwenhoeks Brief vom 12. September 1683, weil sich in demselben die ersten Abbildungen von Bakterien finden, die er in dem Zahnschleim seines eigenen Mundes beobachten konnte. Die Zeichnungen bieten uns nicht nur eine recht gut aufgefaßte Wiedergabe der Form von Bakterien, sondern bei einem beweglichen Stäbchen finden wir auch die Bewegungsbahn desselben in punktierter Linie dargestellt. Diese Abbildungen beweisen uns einwandfrei, daß Leeuwenhoek tatsächlich Bakterien gesehen hat, die er allerdings als kleinste „Tierchen" bezeichnet.

Von da ab entdeckte man solche „Tierchen" in allen erdenklichen Flüssigkeiten und Körpersäften und machte sie für die verschiedenen Krankheitserscheinungen verantwortlich. Es erblühte in der Medizin eine neue „Pathologia animata". Die Sucht, alles auf diese „Tierchen" zurückzuführen, brachte als Rückschlag das gänzliche Aufgeben dieser an sich gesunden Forschungsrichtung. Ihrer bemächtigten sich die Satire und der Spott. Schon im Jahre 1726 erschien in Paris ein satirisches Buch, in welchem diese „Tierchen" oder „Würmer" nach den verschiedenen Krankheiten als Ohnmachtler, Leibkneifler, Schwärler, Wohllüstler usw. bezeichnet und sinngemäß abgebildet worden sind, was natürlich wesentlich zur Lächerlichmachung der ganzen Richtung beigetragen hat.

Trotz alledem ist die Lehre von den kleinsten Lebewesen durchaus nicht eingeschlafen; sie blieb erhalten und wurde, wenn auch langsam, so doch ständig von Gelehrten und Dilettanten erweitert und vertieft. Man teilte diese Tierchen nach äußeren Merkmalen in Klassen und Ordnungen ein und versuchte schon sehr früh, ein System derselben aufzustellen.

Welch ungeheuren Eindruck die Forschungsergebnisse Leeuwenhoeks auf seine Zeitgenossen und die nächste Generation machen mußten, kann man nur dann richtig beurteilen, wenn man bedenkt, daß zur damaligen Zeit der Kampf um die Lehre von der „Urzeugung" noch keineswegs entschieden war. Schien es doch anfangs, daß gerade diese Befunde von kleinsten Lebewesen neuerdings eine Stütze für die Annahme des Bestehens der Urzeugung abgeben würden. So galt es als Tatsache, daß selbst Wirbeltiere aus nicht organisierter Substanz, also elternlos, sich bilden können, denn wir finden um das Jahr 1600 bei dem französischen Chemiker van Helmont ein Rezept angegeben, um elternlos Mäuse zu züchten. Diese Zeugung organisierter lebender Gebilde aus nicht organisierter unbelebter Materie oder aus Urstoffen bezeichnet man deutsch als „Urzeugung", wofür sich in der Gelehrtensprache die Bezeichnung generatio aequivoca, generatio spontanea, Abiogenesis und Heterogenesis eingebürgert hat.

Mit der Entdeckung und mit dem tieferen Eindringen in die Erscheinungen des Lebens dieser Kleinlebewesen glaubte man auch, die Urzeugung ohne weiteres ihres Schleiers entkleiden zu können.

Der schon durch die einwandfreien Untersuchungen Redis, Swammerdams und Leeuwenhoeks zuungunsten der Anhänger der Lehre von der Urzeugung bei den Insekten ausgefallene Kampf entbrannte im 18. Jahrhundert aufs neue. Man verstand unter Urzeugung das Hervorgehen neuer Lebewesen aus unorganisierter Substanz, ohne daß ihr Erscheinen auf vorher bestehende Keime zurückzuführen ist. Nun entstand in solch anscheinend lebensleeren Infusionen oder Aufgüssen innerhalb weniger Tage ein reiches Leben der verschiedensten kleinen Organismen. Was Wunder, daß man ihr Entstehen einer wunderbaren Zeugungskraft oder Vegetationskraft in diesen Aufgüssen zuschrieb und in ihnen die Rätsel der Urzeugung gelöst zu sehen glaubte. Doch da traten auch schon die Gegner dieser Anschauung und die Verfechter der Lehre von der alleinigen Entstehungsmöglichkeit von Organismen aus dem Ei mit schlagenden Beweisen für die Unrichtigkeit der Urzeugungslehre auf. Andererseits konnte Needham zeigen, daß selbst in gekochten Infusionen diese Tierchen entstehen, was doch sehr für die Urzeugung spricht. Allerdings machte Bonnet in Genf ganz richtig dagegen geltend, daß es doch denkbar und möglich ist, daß es Eier oder Tiere gibt, die die Temperatur heißer Asche aushalten und daß sie überhaupt infolge ihrer Winzigkeit bei den kleinsten unsichtbaren Öffnungen des Flaschenverschlusses wieder in die Infusion gelangen könnten.

Was Bonnet theoretisch forderte, bewies der Gelehrte Abt Spallanzani durch das Experiment. Er kochte die Flaschen aus und füllte die ebenfalls gekochten Infusionen siedendheiß in die Flaschen ein, worauf er sie versiegelte; und siehe, in den meisten Flaschen blieben die Aufgüsse frei von lebenden Wesen! Daraus schloß Spallanzani, daß sich in den Aufgüssen nur dann Tierchen entwickeln können, wenn unerhitzte Luft zu ihnen Zutritt hat, da sie nur dann lebende Eier enthalten kann, welche aus ihr in die Infusion gelangen. Diese Tierchen entstehen daher nicht durch Urzeugung, sondern aus Eiern. Dieses Experiment ist auch die Grundlage unserer heutigen Sterilisierungsmethoden und der Konserventechnik, die insbesondere der Franzose François Appert begründete.

Die Anhänger der Urzeugung ergaben sich noch lange nicht, sondern erklärten, durch das Sieden erleiden die Infusion Veränderungen, wodurch ihnen jene Qualitäten verloren gehen, die die Urzeugung auslösen. Erst zahlreiche Experimente Schulzes (1836), Schwanns (1837), Schröders und Duschs (1854), Hoffmanns (1860) und Chevreul und Pasteurs (1861) konnten dartun, daß von einer Urzeugung in diesen Aufgüssen keine Rede sein kann. Für uns sind diese Versuche auch deshalb besonders bemerkenswert, weil sie wieder Grundlagen für die heute geübte Praxis der Keimfreihaltung von Substraten abgeben. Aus diesem Grunde seien sie kurz erörtert.

Franz Schulze füllte eine Glasflasche etwa bis zur Hälfte mit Wasser, dem verschiedene pflanzliche und tierische Stoffe beigemengt waren, verschloß dieselbe mit einem doppelt durchbohrten Kork, durch den je eine rechtwinklig gebogene Glasröhre führte. Nun erhitzte er den Flascheninhalt bis zur kräftigen Dampfentwicklung, so daß aus beiden Röhren der Dampf ausströmte. Nunmehr setzte er an beide Enden Kugelapparate, von denen der eine Kalilauge und der andere konzentrierte Schwefelsäure enthielt, worauf er täglich einige Male Luft durch die

Flasche saugte. Figur 1 zeigt die ganze Versuchsanordnung bei der Durchlüftung. Obwohl er diese Durchlüftung durch mehr als zwei Monate hindurch wiederholte, blieb der Inhalt frei von lebenden Organismen. Erst kurz nach dem Zutritt von Luft, welche die Vorlagen nicht passiert hatte, siedelten sich massenhaft Mikroorganismen an. Damit war auch dargetan, daß zum Auftreten der Lebewesen in den Infusionen eine Infektion derselben durch in der Luft enthaltene Keime notwendig ist.

Th. Schwann reinigte die Luft bei seinen Versuchen nicht durch Hindurchleiten derselben durch chemisch stark wirksame und alles Lebende zerstörende Flüssigkeiten, wie Kalilauge und Schwefelsäure, sondern durch Erhitzen derselben. In Figur 2 sehen wir die Versuchsanordnung Schwanns dargestellt. Der Flascheninhalt wird wieder bis zur Dampfbildung erhitzt und der Dampf durch ein spiralig gewundenes Rohr abgeleitet, während das zweite Rohr in eine teilweise mit stark wirkender Flüssigkeit gefüllte Flasche taucht. Beim Auskühlen und vor dem Durchblasen von Luft wird das Spiralrohr erhitzt und so die durchströmende Luft von allem Lebendigen gereinigt. Auch so behandelte Aufgüsse bleiben frei von Vegetationen.

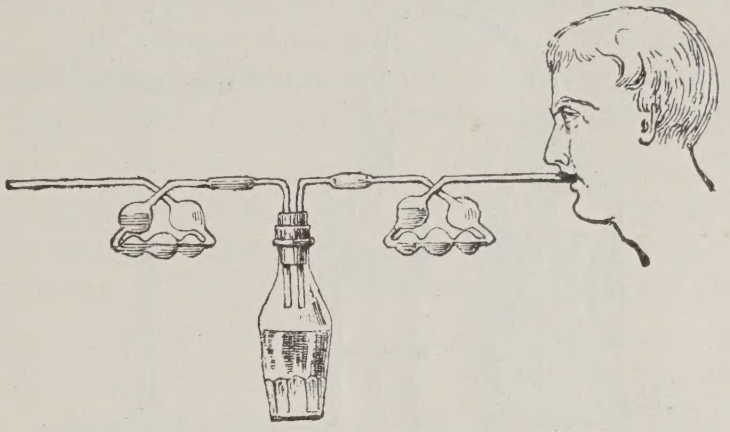


Fig. 1.

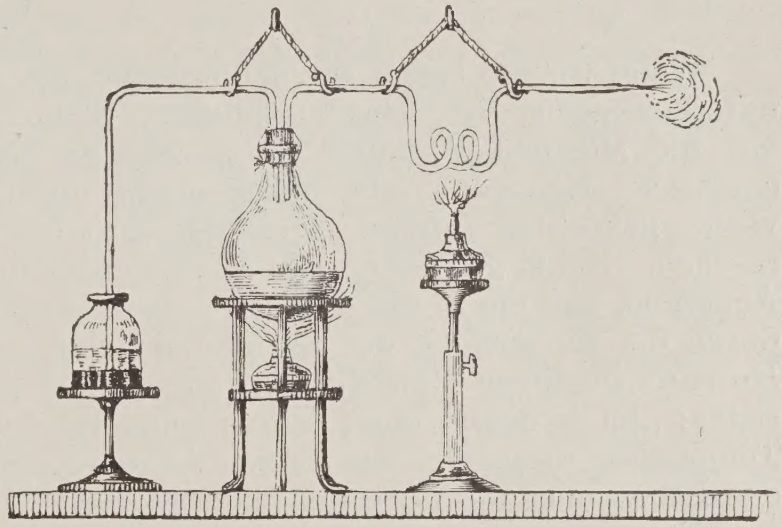


Fig. 2.

Sowohl gegen die Verwendung von Kalilauge und Schwefelsäure einerseits als auch von geglühter oder erhitzter Luft andererseits erhoben die Anhänger der Urzeugungslehre heftigen Einspruch, indem sie erklärten, daß durch diese gewalttätige Behandlung der Luft ihre Zusammensetzung geändert würde und dann ein Wachstum in den Aufgüssen ausbleiben müsse.

Schröder und Dusch vermieden nun jeden thermischen oder chemischen Eingriff bei der Entkeimung der Luft in ihren Versuchen, sondern leiteten dieselbe einfach durch eine dicke Lage von Watte. Auch sie benützten zur Aufnahme der Infusion einen mit einem doppelt gebohrten Kork armierten Kolben, in dem sie den Inhalt zuerst kochten, worauf sie eine mit Watte gefüllte Röhre vorlegten, welche die durch einen Aspirator eingesaugte Luft vor dem Zutritt zum Infus passieren mußte.

Figur 3 zeigt uns die ganze Versuchsanstellung. Bei den zahlreichen so angestellten Versuchen zeigte sich tatsächlich ein teilweiser Erfolg, indem eine große Anzahl von Infusionen vegetationsfrei geblieben ist. In einigen stellten sich allerdings reichlich Kleinlebewesen nach längerer oder kürzerer Zeit ein, obwohl die Luft das besagte Baumwollfilter passieren mußte. Dies gilt vornehmlich für Infuse von Milch, Eigelb und Fleisch.

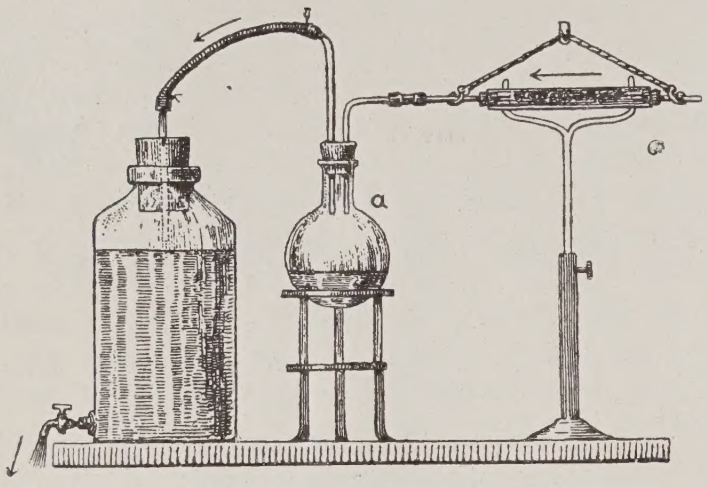


Fig. 3

Da schien das alleinige Filtrieren der Luft durch Watte keinen Erfolg zu haben. Schröder und Dusch drückten sich über ihre Versuche auch sehr vorsichtig aus und stellten nur fest, daß in der Luft ein unbekanntes Etwas vorhanden ist, welches das Entstehen von Lebewesen in Infusionen zuläßt, ohne über dieses Etwas irgendwie zu berichten. Alle diese Versuche konnten in überzeugender Weise die Lehre von der Urzeugung nicht widerlegen.

Wenn wir die bisher zur Widerlegung der Lehre von der Urzeugung unternommenen Versuche überblicken, finden wir als sicheres Ergebnis nur die Möglichkeit, durch entsprechende Maßnahmen (wie Erhitzen, chemische Reinigung oder mechanische durch Wattefiltration) die zu vorher gekochten Infusen zutretende Luft frei von lebenden Keimen zu machen. Dabei geschahen alle Experimente unter der stillschweigenden Annahme, daß die in den Infusen vorhandenen Kleinlebewesen jedenfalls durch die Einwirkung der Siedehitze sicher vernichtet würden, obwohl Bonnet in dieser Hinsicht schwere Zweifel ausgesprochen hat in dem Satze: „Ist es denn sicher, daß es keine Tiere und Eier gibt, welche eine Temperatur derjenigen der heißen Asche ertragen können, ohne dadurch das Leben oder die Fortpflanzungsfähigkeit zu verlieren?“

Es war L. Pasteur vorbehalten, die Urzeugungslehre im damaligen Sinne durch geistreiche Experimente einwandfrei zu widerlegen. Bereits im Jahre 1862 konnte Pasteur an die Pariser Akademie der Wissenschaften in einer ziemlich umfassenden Abhandlung berichten, daß es tatsächlich gelingt, ohne irgendwelche Zusätze von stark wirkenden Körpern jedes Substrat durch entsprechendes Erhitzen keimfrei zu machen und dadurch auch keimfrei aufzubewahren, daß man jedwedes Eindringen von Keimen aus der Luft verhindert. Pasteur konnte den Einwurf der Anhänger der Lehre von der Urzeugung, daß durch diese Erhitzung das Substrat die für das Entstehen des Lebens notwendigen Eigenschaften verliere, dadurch entkräften, daß er nachträglich in solche keimfreien Infusionen Kleinlebewesen einbrachte, die sich dann darin üppig entwickelten. Dabei benützte Pasteur ähnliche Kolben, wie vor ihm Hoffmann, Kolben, die oben einen schwanenhalsähnlichen Ansatz hatten, durch den die Luft zum Inhalt Zutritt fand. Er vermied so jedwede Filtration der zustreichenden Luft, und trotzdem hielten sich die Aufgüsse in den Kolben

beliebig lange Zeit keimfrei. Gerade diese Versuche sagen auch über das „Etwas in der Luft" aus, das das Entstehen von Kleinlebewesen beim ungehinderten Zutritt freier Luft nach der Ansicht der Urzeugungslehre-Anhänger bewirken soll. Beim langsamen Durchstreichen der Luft durch dünne und zweifach gebogene Kolbenansätze kann dieses „Leben entwickelnde Agens oder Etwas" nur zurückgehalten werden, wenn es sich dabei um Körperliches handelt, das infolge der Schwerkraft dem aufsteigenden Luftstrom nicht folgen kann und daher in den Biegungen liegen bleibt. Daß in entkeimten und so aufbewahrten Infusen sich keine Entwicklung eingestellt hatte, zeigt also zur Evidenz, daß es sich bei den durch die Luft herbeigeführten Infektionen solch steriler Aufgüsse um das Hineintragen von körperlichen Keimen, also Kleinlebewesen, handelt.

Durch diese Experimente konnte Pasteur so wirksam gegen die damalige Auffassung der Urzeugungslehre auftreten, daß deren Anhänger die Segel strichen. Allgemein gilt der Satz: Jedes Lebende aus dem Lebenden (oder Ei), omne vivum ex vivo oder omne vivum ex ovo.

Diese Versuche haben zur Evidenz bewiesen, daß in keimfreien, zersetzungsfähigen Infusionen allerdings eine Urzeugung von Mikroorganismen ausgeschlossen erscheint und daß die sich beim offenen Stehen solcher Aufgüsse in denselben stets entwickelnde Mikrobenflora jedenfalls auf Infektionen aus der Luft zurückzuführen ist. Dies gilt natürlich nur für jene Versuchsanordnungen, bei denen sich eine Urzeugung jedenfalls nicht beweisen läßt. Nach dem heutigen Stand der Naturwissenschaft sind wir aber keineswegs berechtigt, jede Art von Urzeugung a priori abzulehnen. Wollen wir nicht an Wunder glauben, so müssen wir für gewisse Entwicklungszeiten der Erde die Möglichkeit der Entstehung von organisierten Lebewesen aus nicht organisierten organischen Verbindungen annehmen. Dabei ist es gleichgültig, ob wir dieses erste Auftreten lebenden Plasmas auf unsere Erde verlegen oder, wie Thomson meint, auf andere Himmelskörper, von denen es in fernen Zeiten durch Meteore auf unseren Planeten gelangte. Die Forderung nach der Annahme der Entstehung einfachster Kleinlebewesen findet man bei zahlreichen Naturforschern; so schreibt beispielsweise C. Nägeli in seiner „Abstammungslehre" bei der Behandlung der Grenzen naturwissenschaftlicher Erkenntnis über „Probien", Vorwesen, die den uns bekannten Lebewesen vorausgegangen sind und gewissermaßen Bindeglieder oder Zwischenstufen zwischen der nichtorganisierten Substanz und den bekannten Kleinlebewesen vorstellen. Ein solches Probion läßt Nägeli nur aus einem Tropfen homogenen Protoplasmas bestehen, formlos und ohne innere Gliederung.

Mit den oben genannten Versuchen zur Widerlegung der Urzeugungslehre, insonderheit jenen Pasteurs, bewegen wir uns schon in jenen Zeiten, die für die Ausgestaltung der Mykologie grundlegend waren und in der sich nach mancherlei Irrfahrten die heutige Anschauung über die Mikroorganismen selbst und ihre Tätigkeit bei den Gärungsvorgängen herausschälte. Das Studium der äußeren Erscheinungsformen derselben führt in der Folge zum tieferen Eingehen in die Lebensbedingungen dieser Organismen und zugleich zur Erkenntnis der Wirkung und Tätigkeit derselben in der Natur überhaupt. Neben der medizinischen Bakteriologie entwickelte sich die technische Mykologie, deren Grenzen natur-

gemäß weiter gesteckt sind und die sich mit weit mehr Organismen zu beschäftigen hat als die erstere.

Der Begriff Gärung hat im Laufe der Zeiten manche Wandlungen durchgemacht. Ursprünglich betraf er jene Vorgänge, durch die, wie schon einleitend angedeutet, spontan eine Verbesserung und Fertigstellung, Garmachung von Nahrungs- und Genußmitteln erreicht wird. Ein solcher Vorgang ist beispielsweise die Umwandlung des Mostes in den haltbaren Wein. Die Gelehrtensprache bedient sich bekanntlich dafür des Ausdruckes „Fermentatio". Jene Körper nun, die Fermentation verursachen, nannte man Fermente und verstand hierunter jegliche Stoffe, die überhaupt eine Reaktion auszulösen vermochten. Allgemein herrschte die Anschauung, daß die Gärung ein rein chemischer Vorgang toter Materie sei, der mit Lebewesen nichts zu tun hat. Wenn auch schon frühzeitig von Forschern auf einen Zusammenhang der Gärungserscheinungen mit Kleinlebewesen hingewiesen worden ist, fehlten hierfür doch einwandfreie Beweise durch entsprechende Experimente. Schon im Jahre 1818 hat der Österreicher Chr. Erxleben seiner Anschauung über die Zusammenhänge der Gärungserscheinung mit Vorgängen des Lebens dadurch Ausdruck verliehen, daß er in seiner in Prag erschienenen Schrift über Güte und Stärke des Bieres und die Mittel, diese Eigenschaften recht zu würdigen, sagt: „... weil die Gärung, obwohl bisher immer dafür gehalten, keineswegs eine bloß chemische Operation zu sein scheint, sondern vielmehr zum Teil als Vegetationsprozeß, und als das Glied in der großen Kette in der Natur zu betrachten sein dürfte, welches die Wirkungen, die wir chemische Prozesse nennen, mit der Vegetation in Verbindung setzt . . . ."

Erst mit dem tieferen Studium der Kleinlebewesen und mit der Entdeckung, daß dieselben bei der Gärung und Fäulnis beteiligt sind, rang sich eine neue Anschauung über diese Vorgänge durch. Die Begründer dieser vitalistischen Auffassung der Gärungsvorgänge sind der Franzose Cagniard de Latour und die beiden deutschen Forscher Schwann und Kützing, die unabhängig voneinander zu prinzipiell gleichen Ergebnissen zu annähernd gleicher Zeit gelangten, wenn auch auf verschiedenen Wegen.

Cagniard, als der Erfinder der Sirene bekannt, hatte großes Interesse für die Brauereitechnik und studierte deshalb die „Hefe", wobei er sich zur Untersuchung der bei der Bierbereitung auftretenden Hefemassen des Mikroskops bediente. In den Jahren 1836 und 1837 berichtet er über seine Ergebnisse an die Pariser Akademie in einer kurzen Mitteilung, die in folgenden Sätzen gipfelt:

1. Die Bierhefe ist aus kleinen Kügelchen zusammengesetzt, welche die Fähigkeit haben, sich zu vermehren, die also organisierte Wesen sind und nicht eine tote chemische Substanz, so wie man bisher angenommen hat.

2. Diese Körperchen scheinen dem Pflanzenreich anzugehören und sich auf zweierlei Weise fortzupflanzen.

3. Sie scheinen auf Zuckerlösung nur so lange zu wirken, als sie lebendig sind, woraus man mit vieler Wahrscheinlichkeit schließen kann, daß durch deren Lebenstätigkeit die Kohlensäure entbunden und die Zuckerlösung in eine alkoholische Flüssigkeit umgewandelt wird.

Mit dem letzten Satz ist die Ansicht Latours über die Gärung als einen vitalen Vorgang niedergelegt. Zu einem im Prinzip gleichen Schluß über die Erreger der Bier- und Weingärung und sie selbst gelangte auch Schwann um dieselbe Zeit. Er charakterisiert die Hefe ebenfalls wegen ihrer Vermehrung als pflanzlichen Organismus und stellt ihn in die Reihe der Pilze. Außerdem beschreibt Schwann sehr treffend die Ernährung dieser Pilze und macht sich darüber eine klare Vorstellung, indem er unter anderem in der Weingärung eine Zersetzung sieht, bei der der Zuckerpilz dem Zucker und einem stickstoffhaltigen Körper seine Nahrung entzieht, während aus dem ersten dieser Stoffe noch Alkohol gebildet wird. Schwann hat auch als erster verschiedene Stoffe und die Hitze näher auf ihre hemmende Wirkung bei der alkoholischen Gärung untersucht. So fand er, daß Erhitzung diese Lebewesen zerstört und gleichzeitig die Gärung aufhebt. Die gleiche Wirkung erkannte er im arseniksauren Kali und in anderen Giften, die wir heute gemeiniglich als Desinfektionsmittel ansprechen. In Schwann müssen wir den Begründer der Lehre von der Antisepsis, der Vernichtung von Kleinlebewesen durch Gifte, erblicken.

Um die gleiche Zeit befaßte sich auch der deutsche Algenforscher Kützing mit dem Studium der Erreger der alkoholischen Gärung und zog auch andere technisch wichtige Vorgänge, die auf Mikroorganismen zurückgehen, in den Kreis seiner Beobachtungen, wie namentlich die Essiggärung. Er hat als erster auch die pflanzliche Natur der Essigmutter und deren unbedingte Notwendigkeit zur Bildung der Essigsäure bei dieser Gärung richtig erkannt. Auch er spricht sich für die Auffassung, diese Vorgänge auf lebende Pilze oder Algen zurückzuführen, aus und ist somit ein Mitbegründer der vitalistischen Gärungstheorie. Diese Auffassung der nicht rein chemischen Natur der Gärung ist in seinen eigenen Berichten klar und deutlich festgelegt, indem er schreibt:

„Sicher hängt aber der ganze Prozeß bei der geistigen Gärung von ber Bildung der Hefe und bei der sauren von der Bildung der Essigmutter da.“ „Insofern Gärung gleichbedeutend ist mit einer gegenseitigen Wirkung sich erzeugender organischer und unorganischer Gebilde auf Bestandteile einer gegebenen Flüssigkeit, die in bezug auf das organische Produkt als Nahrungsmittel betrachtet werden kann, so ist sie auch notwendig gleichbedeutend mit jedem organischen Lebensprozeß. Daher organisches Leben = Gärung. Jene Prozesse dagegen, welche die Essigbildung aus Alkohol mittels Platinmohr, oder auf andere, diesem ähnliche Weise einleiten, können nicht mit der Gärung verglichen werden, sie sind rein chemische Prozesse, während die Gärung ein organisch-chemischer Prozeß, wie der Lebensprozeß eines jeden organischen Körpers ist.“

Die Ansicht aller drei, unabhängig voneinander arbeitenden Forscher ist im Grunde genommen die gleiche. Gärung ist ein Lebensprozeß, bzw. wird nur durch die Lebenstätigkeit oder durch das Leben von Mikroorganismen ausgelöst und durchgeführt. Diese mikroskopisch-biologischen Untersuchungen der drei genannten Forscher sind für die vitalistische Auffassung der Gärung allerdings grundlegend, während die exakte experimentelle Begründung derselben erst durch Pasteur geschah, wozu auch die scharfe Stellungnahme Liebigs gegen diese nichtchemische Gärungstheorie wesentlich beitrug.

Diese, sich später als unhaltbar erweisende Stellungnahme Liebigs darf aber durchaus nicht verwundern, wenn man sich vorstellt, daß ungefähr um dieselbe Zeit die organisch-synthetische Chemie begründet worden ist. Hatte doch im Jahre 1828 Wöhler den Harnstoff künstlich dargestellt, obgleich damals die Mehrheit der Gelehrtenwelt fest daran hielt, daß organische Verbindungen, die bei Lebensprozessen auftreten, niemals in der Retorte erzeugt werden können, weil dort die dazu notwendige Lebenskraft fehle.

Liebig stellte eine mechanische Gärungstheorie auf, in der die von den Vitalisten gefundenen Kleinlebewesen keinen Platz finden konnten. Er sah in jeder Gärung eine molekulare Bewegung, welche ein in Zersetzung befindlicher, also in chemischer Bewegung befindlicher Körper auf einen in seinem Molekül schon gelockerten Stoff überträgt und ihn so zum Zerfall bringt. Hierbei unterschied er scharf zwischen Gärung und Fäulnis. Bei ersterer ist nach Liebigs Auffassung noch ein anderer, fremder Körper, ein Ferment, zur Übertragung der Bewegung vom bereits zerfallenden Zuckermolekül auf das erst zerfallende notwendig, ein Körper, der beim Ablauf der geistigen Gärung abgeschieden wird. Bei der Eiweißfäulnis dagegen überträgt das zerfallende, also faulende Eiweißmolekül die Bewegung selbst auf das noch unversehrte Molekül, und so kann die Fäulnis ganz von selbst immer weitergehen, bis das gesamte Eiweiß der Zersetzung anheimgefallen ist. Fäulnis und Gärung haben nach Liebig hinsichtlich des Vorganges nur den Eintritt desselben gemeinsam, indem in beiden Fällen dazu von einem fremden, toten Ferment der Anstoß ausgehen muß.

Hier setzt nun die eigentliche widerlegende Tätigkeit L. Pasteurs ein, die er mit großem Geschick experimetell glänzend durchführte.

Pasteur veröffentlichte seine experimentellen Studien über Gärungen und ihre Erreger in den Jahren 1857—1876 in einer Reihe von Abhandlungen. Ihm verdanken wir auch eine neue Untersuchungstechnik der Lebensvorgänge der pilzlichen Mikroorganismen, die in der Anwendung von Most u. dgl. als besonders taugliche Nährsubstrate für die Gärungspilze und in den ersten Versuchen und Vorschlägen zur Erreichung von Reinkulturen derselben durch entsprechende Verdünnungen gipfelte. Außerdem verdanken wir Pasteur die erste Beobachtung, daß es auch ein Leben ohne Luft gäbe. Allerdings kann natürlich der von ihm ganz allgemein aufgestellte Satz: Gärung ist Leben ohne Luft, nicht allgemeine Berechtigung beanspruchen.

Es wurde aber eine neue Erscheinung des Lebens entdeckt und der Grund zur Lehre von der Anaërobiose, des Lebens ohne Luft, gelegt, die nicht nur für die Gärungserscheinungen bei einer Reihe von Organismen höchst bedeutungsvoll ist, sondern auch das größte Interesse der Biologie überhaupt beansprucht.

Im weiteren Verlauf der Entwicklung der Gärungstheorien finden wir dann bei Nägeli eine Auffassung dieser Vorgänge, die einen vermittelnden Standpunkt zwischen derjenigen Liebigs und derjenigen Pasteurs einnimmt. Nägeli meint, daß die bei der Gärung auftretenden Umsetzungen allerdings durch lebende Gärungserreger verursacht würden, daß sich die Vorgänge der Gärung aber nicht in der Zelle selbst abspielen, sondern außerhalb derselben, hervorgerufen durch Kräfte, die aber von der Zelle ausgehen. Im Jahre 1879 faßte Nägeli seine

molekular-physikalische Gärungstheorie dahin zusammen, daß die Gärung in einer Übertragung von Bewegungszuständen von Molekülen, Atomen und Atomgruppen des Protoplasmas auf außerhalb der Zelle befindliche Verbindungen bestünde, deren Gleichgewicht dadurch gestört würde und sie selbst dabei zum Zerfalle kämen.

In dieser Zeit des Streites um die Gärungstheorien finden wir bereits die Anfänge einer neuen Auffassung von Zerlegungsvorgängen organischer Verbindungen, die uns in die moderne Enzymtheorie führt. Man kannte seit Langem die Erscheinung, daß mit Wasser zerriebene bittere Mandeln schon nach kurzer Zeit starken Geruch nach Blausäure erkennen lassen. Bereits im Jahre 1830 fanden Robiquet und Boutron-Chalard in dem in der Bittermandel enthaltenen Körper, den sie Amygdalin nannten, jene Substanz, deren spontaner Zerfall Blausäure lieferte. Wenige Jahre später (1837) haben dann Liebig und Wöhler in den Bittermandeln eine eiweißartige Substanz als denjenigen Körper erkannt, welcher die Amygdalinspaltung verursachte, beschrieben ihn und nannten hin Emulsin. Die von Kirchhoff gemachten Beobachtungen über die Vorgänge bei der Verzuckerung von Stärke durch Malz erweiterte Dubrunfaut in den Jahren 1819—1830 dahin, daß diese Spaltung auf eine im Malz vorhandene besondere Substanz zurückzuführen sei, die dann später Payen und Persoz als Diastase bezeichneten. Um dieselbe Zeit stellte Schwann Versuche über die Verdauung im Magen an und konnte eine Eiweißkörper spaltende Substanz nachweisen, der er den Namen Pepsin beilegte.

Alle diese Stoffe erwiesen sich insofern gleich, als sie durch Hitze unwirksam wurden und zur Äußerung großer Wirkungen nur in verschwindend kleiner Menge vorhanden sein müssen. Sie glichen in dieser Hinsicht jenen Stoffen, die durch Kontakt oder Katalyse wirken. Man nannte sie ganz allgemein Fermente und übertrug diesen Namen mit der Nebenbezeichnung „geformt" auch auf die Gärungserreger, da die Wirkung letzterer den Fermenten sehr ähnlich war.

Wir finden von da ab die Bezeichnung „geformte Fermente" für Gärungserreger, während man die von der Zelle losgelöst wirkenden, also selbst leblosen Substanzen, die die oben genannten Umsetzungen hervorrufen, als Fermente schlechthin bezeichnete.

In der Folge erkannte man noch zahlreiche andere Vorgänge, die auf Fermente zurückgehen, und lernte auch die alkoholische Gärung als solchen Vorgang kennen, nachdem Buchner den gärkräftigen Hefepreßsaft herstellte und damit bewies, daß auch diese Umsetzung nur insofern als durch lebende Zellen hervorgerufen angesehen werden kann, als das lebende Plasma den gärungserregenden Körper, die Zymase oder Alkoholase, erzeugt, die dann auch fernerhin ohne Zutun der lebenden Zelle zu wirken vermag.

Einen weiteren Fortschritt in der technischen Mykologie bedeutet die Einführung und die Ausbildung der Reinzuchtmethoden, die auf Pasteur zurückgehen und ihre hohe Vervollkommnung besonders durch Koch für die Bakterien und Hansen und Lindner für die Hefen erreichten.

Schon die mit großer Wahrscheinlichkeit erhaltenen Reinzuchten Pasteurs gestatteten eine genaue Beobachtung der Ernährungsbedingungen der einzelnen Mikroorganismenarten und ihrer Wirkung auf die

umgebenden Substrate. Dadurch bekam die schon von Kützing begründete Lehre von der Spezifizität der Gärungserreger festen Boden.

Die medizinische Wissenschaft hat zu dieser Zeit bereits ihre Pathologie auf die feste und sichere Basis bakteriologischer Untersuchung und Forschung gestellt, soweit es die verschiedenen so gefürchteten Seuchen betrifft. Die Zahl der bekannt gewordenen und mehr oder minder genau untersuchten Bakterien-, Hefe- und Schimmelpilzarten war schon beträchtlich geworden, zumal auch die Botaniker ohne Rücksicht auf die praktische Auswertung der Untersuchungen für die Medizin oder für technische Zwecke rein wissenschaftlich bakteriologische Studien betrieben. Man hat diese bei der Gärung und bei Krankheiten auftretenden und gefundenen Mikroorganismen richtig dem Pflanzenreich zugezählt und sie in die erste Klasse: fungi, Pilze, der Thallophyten oder Lagerpflanzen eingereiht. Damit waren die ersten Anfänge unserer heutigen Systematik der Bakterien, Hefen und Schimmelpilze in großen Umrissen ebenfalls begründet, wenn auch die verwandtschaftlichen Verhältnisse dieser Organismen mit den tierischen Protisten noch keine entsprechende Berücksichtigung finden konnten.

Man versuchte auch schon sehr früh, die gesehenen Mikroorganismen nach ihrer äußeren Form und einigen biologischen Eigentümlichkeiten systematisch zu ordnen.

Es erscheint überflüssig, auf die verschiedenen Bakteriensysteme, die nur mehr historischen Wert besitzen, hier einzugehen. Es sei nur nochmals darauf hingewiesen, daß man die Pflanzennatur der pilzlichen Mikroorganismen spät erkannte. Die Bakterien faßte erst Perty im Jahre 1852 als Phytozoidia, also Pflanzentiere, zusammen.

Die Grundlage der vorläufig auch jetzt noch geltenden Bakteriensysteme gab Ferdinand Cohn in den Jahren 1872—1875. Er gebrauchte auch als erster den Namen „Bakterien" für jene große Gruppe von Mikroorganismen, die wir heute noch darunter verstehen. Er stellte ein System der Bakterien auf, das dieselben sehr richtig den Spaltalgen sehr nahe brachte und sie mit letzteren zur Gruppe der Schyzophytae vereinigte, die zwei große Tribus mit vielen Ordnungen umfaßte. Dabei dienten in erster Linie äußere Merkmale zur Unterscheidung und Aufstellung derselben. Wenn es auch in seiner damaligen Fassung heute keine Geltung mehr besitzt, so sind in ihm doch endgültig die Bakterien zu den Pflanzen gestellt. Es sei hier in seiner Fassung kurz wiedergegeben[1]):

I. Tribus: Gloegenae.

Zellen frei oder durch Interzellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.

A. Zellen frei oder binär oder quarternär verbunden.
   Zellen kugelig . . . . . Chroococcus
   Zellen zylindrisch . . . . . Synechococcus.

B. Zellen im Ruhestand zu amorphen Schleimfamilien vereinigt.

1) Zum Teil nach Migula, Lafars Handbuch d. techn. Mykologie, Bd. 1, S. 137, zitiert.

a) Die Zellenmembranen mit der Interzellularsubstanz zusammenfließend.

1. Zellen nicht phykochromhaltig.

Zellen kugelig . . . . . Micrococcus
Zellen zylindrisch . . . . . Bacterium

2. Zellen phykrochromhaltig.

b) Interzellularsubstanz aus ineinandergeschachtelten Zellhäuten gebildet.

C. Zellen zu begrenzten Schleimfamilien vereinigt.

c) Zellfamilien einschichtig, in einer Zellfläche gelagert.

1. Zellen quarternär geordnet, in einer Ebene . .Merismopedia.
2. Zellen ungeordnet, in einer Kugelfläche gelagert.

d) Zellfamilien mehrschichtig, zu sphäroidischen Zellkörpern vereinigt.

1. Zellenzahl bestimmt, kugelig . . . Sarcina.
2. Zellenzahl unbestimmt, sehr klein, farblos, Ascococcus.

II. Tribus: Nematogenae.

A. Zellfäden stets unverzweigt.

a) Zellfäden frei oder verfilzt.

1. Fäden zylindrisch, farblos, undeutlich gegliedert.

Fäden sehr dünn, kurz . . . . Bacillus
Fäden sehr dünn, lang . . . . Leptothrix.
Fäden stärker, lang . . . . . Beggiatoa.

2. Fäden zylindrisch, phykochromhaltig.
3. Fäden zylindrisch, gegliedert, Gonidien bildend, farblos Crenothrix.
4. Fäden schraubenförmig ohne Phykochrom.

Fäden kurz, schwachwellig . . . Vibrio.
Fäden kurz, spiralig, starr . . . Spirillum.
Fäden lang, spiralig, flexil . . . Spirochaete.

5. Fäden rosenkranzförmig, ohne Phykochrom . . . . Streptococcus.

b) Zellen durch Interzellularsubstanz zu Schleimfamilien vereinigt.

1. Fäden zylindrisch, farblos . . . . Myconostoc.

B. Zellfäden durch falsche Astbildung verzweigt.

1. Fäden zylindrisch, farblos . . . . Cladothrix.

Hier sind nur jene Untergruppen aufgenommen, die sich auf Bakterien im heutigen Sinne des Wortes beziehen, während die zahlreichen anderen wegblieben.

Das Cohnsche System fußt auf der Konstanz der Bakterienarten, die aber gerade in jener Zeit sehr angezweifelt wurde, da man einem ständigen Übergang der Arten ineinander und einer weitestgehenden Pleomorphie der einzelnen Bakterien das Wort redete. In diesem Geiste ist auch das nun folgende System Zopfs gehalten, wenn auch darin eine gewisse Konstanz der Arten gewahrt erscheint.

Einen großen Fortschritt in der systematischen Ordnung der Bakterien brachten die Systeme von van Tieghem, de Bary und Hueppe.

Ihnen diente die Fruktifikation als Grundlage für die Aufstellung der Arten und Gattungen, die auch jetzt bis zu einem gewissen Grade noch Verwendung in der Bakteriensystematik findet. Damit bewegen wir uns schon in der Neuzeit der Bakteriensystematik, die wir später ohnehin genauestens kennen lernen werden.

Schon nach dieser äußerst kurzgefaßten geschichtlichen Entwicklung der Lehre von den Bakterien können wir den Begriff „Bakterien" folgendermaßen definieren: Wir verstehen unter Bakterien phykochromfreie, einzellige, sehr kleine Spaltpflanzen, die sich also durch Spaltung vermehren; viele unter ihnen sind zur Ausbildung von endogenen Sporen befähigt und haben demnach mehr oder weniger widerstandsfähige Dauerformen. Die beweglichen Formen tragen Geißeln als Bewegungsorganellen oder bewegen sich in wenigen Fällen ohne solche nach Art der Oszillarien.

Über die Geschichte des Systems der Hefen läßt sich nicht sehr viel berichten, da erst sehr spät ihre Zugehörigkeit zu den Pilzen erkannt wurde. Gerade sie weist aber viele Formen auf, die die systematische Bearbeitung sehr erschwerte, da dieselben bei einer und derselben Art vielfach wiederkehren und sogar zur Annahme führten, daß die Hefe nur einen Entwicklungszustand eines höheren Pilzes vorstellt.

Im Jahre 1870 stellte Rees den Zuckerpilz (Saccharomyces), wie derselbe schon von Meyen genannt worden war, zu den Askomyzeten oder Schlauchpilzen, da zur Zeit der Sporenbildung die vegetative Zelle in einen Askus umgewandelt wird, in dem eben die Sporen erzeugt werden.

Erst mit Emil Christian Hansen setzte in den Jahren 1881 bis 1883 eine neue Ära der Hefeforschung ein, die die grundlegenden Tatsachen zum heutigen System der Hefen schuf. Dies wurde wieder nur möglich durch Hansens zuverlässiges Reinzuchtsystem, das die Zucht von einer Zelle weg ermöglichte und so die Beobachtung des gesamten Entwicklungsganges einer sichergestellten Art zuließ. So konnte Hansen das große Genus Saccharomyces in Arten, Rassen und Varietäten aufteilen. Hansen verstand unter Saccharomyces nur diejenigen Sproßpilze, die die Fähhigkeit zur Sporenbildung besitzen Sproßpilze sind wieder solche Pilze, deren Zellen sich durch Treiben von Sprossen vermehren, mit anderen Worten, die Vermehrung geschieht bei ihnen regelmäßig und immer durch Sprossung, wobei die Tochterzellen im Verband bleiben können. Damit sagen wir schon, daß es sich um einzellige Pilze, wie bei den Bakterien, handelt. Die Eigenschaft der Sproßbildung finden wir noch bei einer Reihe von Schimmelpilzen und anderen höheren Pilzen, nur ist sie hier gewiß nicht die regelmäßige Vermehrungsform, sondern tritt gelegentlich unter besonderen Bedingungen auf.

Hansen faßte dann die saccharomycesähnlichen Sproßpilze, die ebenfalls Alkohol aus Zucker bilden, unter der Bezeichnung Torula zusammen. Dieselben entbehren also die Sporenbildung.

Wir können vorläufig den Begriff Hefe so fassen, daß wir darunter jene einzelligen Eumyzeten verstehen wollen, welche imstande sind, die alkoholische Gärung zu erregen. Dazu gehören auch einzellige Eumyzeten, die sich nicht durch Sprossung vermehren, son-

dern durch Spaltung; dieselben bezeichnet man als Schyzsaccharomyceten oder auch als Spalthefen. Weiter sind hierher zu rechnen die meisten Saccharomyceten mit Ausnahme jener wenigen Arten, die keine alkoholische Gärung hervorrufen, und endlich die saccharomycesähnlichen Sproßpilze ohne Sporenbildung, die Torulaarten.

Literatur zur Einleitung.

Klöcker, Alb., Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen von Emil Chr. Hansen. Jena 1911.

Lafar, F., Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, Jena 1907 (Einleitung).

Löffler, Fr., Vorlesungen über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von den Bakterien. Leipzig 1887.

Migula, W., Einteilung und Stellung der Bakterien im System. Lafars Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 1, S. 128.

Perty, Zur Kenntnis kleinster Lebensformen. 1852.

I. Abschnitt.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Schizomyceten.

1. Morphologie der vegetativen Bakterienzelle.

A. Zellform.

Die Bakterien treten uns in der freien Natur und in der Laboratoriumskultur meist in mannigfacher äußerer Form entgegen. Selbst eine unter schärfster Kontrolle von einer einzigen Zelle aus angelegte Reinkultur zeigt schon nach wenigen Tagen eine gewisse Vielförmigkeit der Gestalt der betreffenden Bakterienart, die so weit gehen kann, daß Zweifel an der Reinheit der Kultur auftauchen. Diese Vielgestaltigkeit der Zellen hat ihre Ursache vornehmlich im verschiedenen Entwicklungszustand der Zellen und in Veränderungen des Nährsubstrates beim Wachstum der Bakterien. Die Formen der vegetativen Bakterienzellen, also jener, die sich normal durch Querspaltung teilen und auch als Oidien bezeichnet werden, lassen sich trotzdem auf einige wenige Grundtypen zurückführen: die Kugel, den Zylinder und die Schraube.

1. Kugelbakterien (Kokken).

Unter normalen Ernährungsbedingungen besitzen zahlreiche Bakterien eine reine oder sehr annähernde Kugelgestalt, welche besonders an den eben freigewordenen Teilungsprodukten, den jungen Tochterzellen, sehr gut zu beobachten ist. Bei ihnen kann natürlich von einer Mannigfaltigkeit oder Veränderung der Gestalt nicht gesprochen werden, wenn man davon absieht, daß bei allen Vertretern dieser Bakteriengruppe unmittelbar vor und ganz besonders nach der Teilung eine Abweichung von der Kugelform festzustellen ist. Die Tochterzellen nehmen aber, sobald sie frei werden, in kürzester Zeit die Kugelgestalt wieder rein an. Man ist überhaupt nur dann berechtigt, eine Bakterienart in die Gruppe der Kugelbakterien einzureihen, wenn sie bei guter Vermehrung also in allen ausnützbaren Nährsubstraten und bei günstigen Temperaturverhältnissen kurz nach der Teilung die Kugelform annimmt, sofern die Teilungsprodukte frei werden und als einzelne Zellen weitervegetieren. Treten im Verlaufe der Entwicklung einer Kugelbakterienkultur gewisse, später

noch genau zu beschreibende Wuchsverbände auf, in denen die Zellen nach der Teilung festgehalten werden, dann können Abflachungen der Kugelgestalten an den Berührungsstellen auftreten, die die reine Kugelform beeinträchtigen. Ein gutes Beispiel für diese Erscheinung geben uns diejenigen Kugelbakterienarten, welche die Neigung besitzen, nach der Teilung noch längere Zeit vereint zu bleiben, zusammengehalten von einer gemeinsamen Kapsel. Solche Kugelbakterien bezeichnet man auch als Doppelkugelbakterien oder Diplokokken. Nebenstehende Figur 4 zeigt schematisch gezeichnet in *a* eine einzelne Kugelbakterie und in *b* dieselbe vor der Teilung, nicht mehr rein kugelförmig, wie an dem punktiert eingezeichneten Kreis zu bemerken ist, dessen Umriß sich mit demjenigen der Zelle nicht mehr deckt. In *c* endlich sieht man die beiden Tochterzellen, die in kurzer Zeit nach der Teilung frei werden und die Kugelgestalt wieder annehmen, wie es *d* zeigt. In *e* bis *f* dieser Figur sind Diplokokken wiedergegeben, deren Teilungsprodukte die

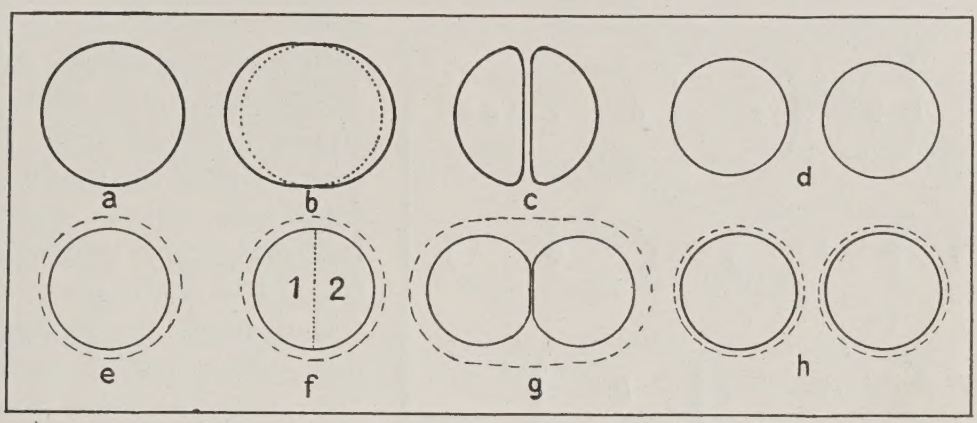


Fig. 4.

Abflachung dort aufweisen, wo die Teilungsebene eingeschnitten hatte. *E* zeigt den Diplokokkus in der durch die gestrichelte Linie angedeuteten Kapsel. In *f* hat sich der punktierten Linie entsprechend die Teilungswand auszubilden begonnen, wodurch die Tochterzellen 1 und 2 entstehen. *G* zeigt uns beide Teilungsprodukte, in der gemeinsamen Kapsel liegend, an den Berührungsstellen noch leicht abgeplattet. Erst wenn sie später frei werden, zeigen sie wieder die Kugelgestalt, wie aus *h* ersichtlich ist.

2. Stäbchenbakterien.

Mannigfach ist die Form derjenigen Bakterienarten, die einen zylindrischen Zelleib besitzen. Man bezeichnet sie kurzweg als Stäbchenbakterien. Bei ihnen ist eine größere Abwechslung in der äußeren Gestalt schon dadurch bedingt, daß bei den verschiedenen Arten die Dicke und Länge variiert. Wir finden Arten, deren Vertreter sehr dick und kurz sind, so daß die einzelnen Zellen gedrungen und plump aussehen. Andererseits gibt es Stäbchenbakterien von zartem und schlankem Aussehen. Diese beiden Extreme sind von allen erdenklichen Übergangsformen verbunden. Die Formverschiedenheiten werden dann noch dadurch bedeutend bereichert, daß die Zellenden sehr verschieden gestaltet sind. Wir finden Stäbchenbakterien mit halbkugeligen Enden, wie eines in der Figur 5 im optischen Längsschnitt abgebildet ist. Die Ausbauchung der Enden kann immer geringer werden und schließlich

ganz aufhören, so daß die Stäbchenbakterie wie abgehackt erscheint. In *b*, *c* und *d* der Figur 5 sind einzelne Formen der Zellenden wiedergegeben, die natürlich durch alle erdenklichen Übergangsformen verbunden sind. Die Ausbauchung der Bakterienenden nimmt aber auch bei vielen Arten eine mehr spitze Form an, wie es in *e* der Figur 5 dargestellt ist. In allen diesen Fällen liegt aber die größte Ausladung oder besser gesagt, der äußerste Punkt der ausgebauchten Endfläche in der Längsachse des Stäbchenbakteriums. Es sind aber auch zahlreiche Stäbchenbakterienarten bekannt geworden, deren ausgebauchtes, meistens ziemlich spitz auslaufendes Ende nicht in der Zellachse liegt, wie es *h* und *i* der Figur 5 dartut, wobei die strichpunktierte Linie die Achse markiert. Werden nach der Teilung die Zellen frei und kommen als Einzelzellen zur Beobachtung, bemerkt man meistens an ihnen gleichgestaltete Zellenden, wie es *g* der Figur 5 zeigt. Unmittelbar nach der Teilung, wenn sich die Tochterindividuen eben voneinander getrennt haben, sind die Zellenden derselben meistens ungleich gestaltet, außer es handelt sich um Bakterien, deren Enden *d* der Figur 5 entsprechen. *F* der Figur 5 gibt die beiden Tochterzellen einer Stäbchenbakterie mit stark ausgebauchten Zellenden unmittelbar nach der Teilung wieder. Die Zelle 1 und 2 hat ein ausgebauchtes und ein ebenes Ende, und erst beim völligen Freiwerden beider Zellen wölbt sich letzteres so weit hervor, daß gleichgestaltete Zellenden zustande kommen (*g* der Figur 5). Bildet dieselbe Bakterie Zellfäden, so besitzen die einzelnen im Innern des Fadens liegenden Zellen ausschließlich ebene Enden (vgl. *k* der Figur 5); nur die beiden äußersten Zellen weisen peripher die ausgebauchten Begrenzungsflächen auf. Einzelne Stäbchenbakterientypen sind in der Figur 6 zusammengestellt. Diese Zusammenstellung ist aber keineswegs irgendwie vollständig, denn alle hier wiedergegebenen Formen sind untereinander durch Übergänge verbunden. Die Bakterien sind hier ebenfalls der einfacheren Darstellung wegen im Längsschnitt gezeichnet. *A* und *b* zeigt uns mehr plumpe Stäbchenbakterien mit ausgebauchten und ebenen Zellenden, *d* und *e* schlanke und zarte Zellen. Endlich veranschaulicht uns *c* eine ovale Stäbchenbakterie, die eigentlich bei einer strengen Auffassung des Begriffes Stäbchenbakterien als Zylinder gar nicht in diese Bakteriengruppe gehört. So streng brauchen wir aber den Begriff nicht zu umgrenzen, da manches streng als Zylinderzelle wachsende Bakterium unter besonders günstigen Lebensbedingungen als ovales Gebilde vegetiert. Wir finden eben keineswegs immer reine Zylinderformen, weshalb uns die Stäbchenbakterien im optischen Längsschnitt nicht immer mit parallelen Längskonturen erscheinen. Es kommt auch vor, daß wir Bilder erhalten, die der Zeichnung *h* der Figur 6 entsprechen. Auch kann man

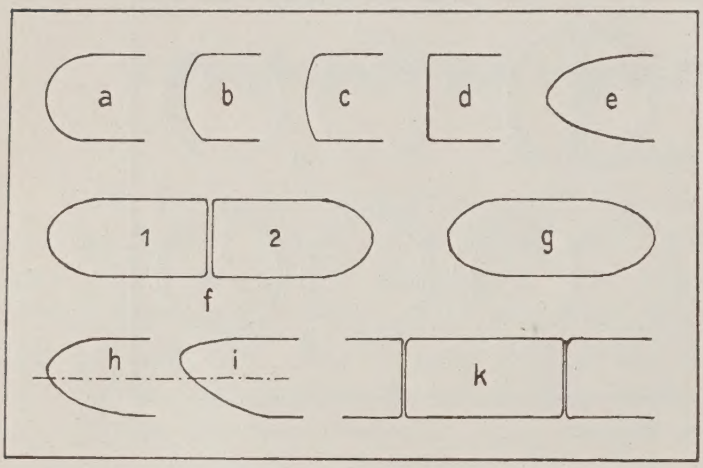


Fig. 5.

häufig leicht gekrümmte oder sogar geknickte Stäbchenbakterien bemerken, wie sie *f* und *g* der obengenannten Figur aufweisen. Dazu sei aber gleich bemerkt, daß solche Formen gewiß nicht den unmittelbaren Teilungsprodukten entsprechen, sondern älteren, besonders lang ausgewachsenen Zellen, die bei der Teilung, wenn eine solche überhaupt noch zustande kommt, wieder gerade gestreckte Tochterzellen ergeben. Früher wurde schon von Stäbchenbakterien gesprochen, die in Fadenverbänden vereint bleiben. Mitunter kommt es sogar zu einem völligen Verschwinden der die einzelnen Zellen trennenden Scheidewände, so daß der Bakterienfaden als einzelne Zelle von enormer Länge imponiert. Es zeigen sich Bildungen, wie sie in *k* der Figur 6 gezeichnet sind. Eigentlich gehören letztere überhaupt nicht hierher, da hier nur die vegetativen Wuchsformen der Bakterien besprochen werden sollen, während diese Fadenbildungen entweder zum Tode der Zellen führen oder zu gewissen Dauerzuständen, die später abgehandelt werden sollen. Anders verhält es sich mit den „Fadenbakterien", deren Fäden ebenfalls aus einzelnen Bakterienzellen bestehen, die aber immer nach der Teilung im Fadenverbande verbleiben. Die Einzelzellen besitzen auch hier die typische Zylindergestalt mit den angegebenen Formen.

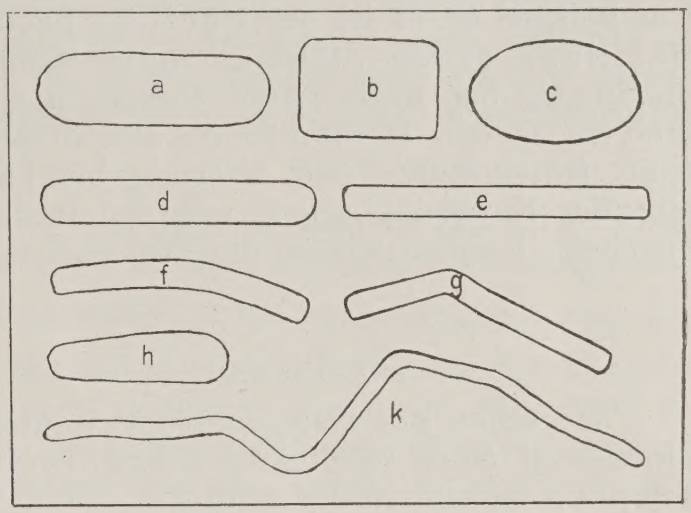


Fig. 6.

In weitaus den meisten Fällen zeigen Stäbchenbakterien nur Wuchsgestalten, die den zylindrischen Charakter wahren. Dies gilt vornehmlich für die reproduzierbaren Formen, das heißt, für diejenigen Wuchsgestalten, die bei ihrer Teilung wieder der Mutterzelle gleich geformte Tochterzellen liefern. So entstehen bei der vegetativen Vermehrung aus einer Stäbchenbakterie durch die Teilung wieder zwei neue, gleichgeformte Stäbchenbakterien; es findet also bei der Teilung eine Reproduktion der ursprünglichen Gestalt statt. In allen Generationen unter allen Bedingungen, die eine Vermehrung überhaupt zulassen, wird im Prinzip die Stäbchenform beibehalten. Man findet in dieser Hinsicht aber auch Ausnahmen. So wächst eine Leuchtbakterienart, Pseudomonas lucifera, auf den meisten tauglichen Nährsubstraten als Kugelbakterie und nur in Peptonwasser ausschließlich als Stäbchen-

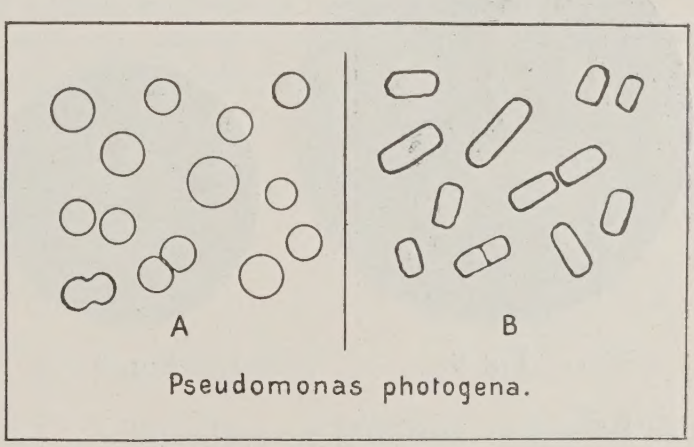


Fig. 7.

bakterie. Unsere Figur 7 illustriert diese Verhältnisse. In *a* dieser Figur sehen wir diese Bakterie in reiner Kugelgestalt auftreten, mit Teilungserscheinungen, die wir bei Kokken zu sehen gewohnt sind. Bringen wir aber diese Bakterienart in einer reinen Peptonlösung zur Entwicklung, so gewahren wir ausschließlich Stäbchenformen, wie sie in *B* der Figur 7 wiedergegeben sind. Unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen neigen übrigens die meisten Stäbchenbakterien dazu, sehr kurze Wuchsformen auszubilden, die in einigen Fällen fast reine Kugelgestalt aufweisen. Ein Beispiel dafür ist der Bacillus prodigiosus oder Wunderblutbazillus, dessen Stäbchen unter weniger günstigen Wachstumsbedingungen bei noch guter Vermehrung etwa zweimal so lang als breit erscheinen. Kommt die Art aber in sehr gute Wachstumsbedingungen, dann treten kurze und eiförmig bis kugelig gestaltete Zellen im Anfang der Entwicklung auf, während in den älteren Kulturen neben den kugeligen Formen wieder die Stäbchen erscheinen.

3. Schraubenbakterien (Spirillen).

Wie schon der Name aussagt, besitzen die hierher gehörigen Bakterienarten einen regelmäßig schraubig gekrümmten Vegetationskörper, dessen Form mitunter einem Schraubenumgang entspricht, meistens aber nur einem Teil eines solchen. Figur 8 zeigt uns das Photogramm von Modellen zweier Schraubenbakterien. Oben gewahren wir ein Spirillum, dessen Zelle die Krümmung eines vollständigen Schraubenumganges aufweist, während das untere Spirillum nur einem Bruchteil eines Umganges entspricht. Die äußere Gestalt erscheint dem Beschauer bei ein und demselben Schraubenbakterium verschieden; bedingt ist dieses Verhalten in der Neigung der Achse des Spirillums zum Beobachter, wie aus der Figur 9 ohne weiteres hervorgeht. Hier ist dasselbe Spirillenmodell abgebildet wie oben in der Figur 8. Die Achse der Schraubenbakterie fällt aber fast mit der Sehachse zusammen, während sie bei der Figur 8 in der Bildebene liegt.

Fig. 8.

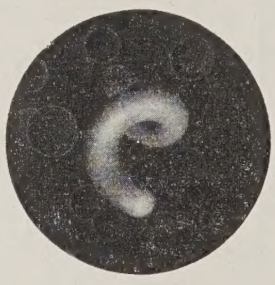


Fig. 9.

Die Gruppe der Schraubenbakterien weist ebenfalls einen großen Formenreichtum auf, der auf Verschiedenheiten der Zelldicke und der Höhe der Schraubenwindungen zurückzuführen ist. Daneben ist auch von Bedeutung der Durchmesser der Schraubenumgänge. Die Zellenden weisen keine so zahlreichen Formen auf, wie man sie bei den Stäbchenbakterien zu sehen gewohnt ist.

B. Größe der Bakterien.

Im allgemeinen zeigen sich Größenunterschiede zwischen den Vertretern verschiedener Bakterienarten und den einzelnen Zellen ein und derselben Art. Selbst in Kulturen einer Bakterienspezies finden wir keineswegs nur gleich große Zellen, da ihre Größe von dem Alter und dem Zustande der Kultur überhaupt abhängig ist. Ein richtiges Urteil über die Größe der Bakterien können wir nur dann gewinnen, wenn wir sie in ungefärbtem lebenden Zustande messen. Dabei darf nicht vergessen werden, daß die Größe der kleinsten, genauer in Reinkulturen untersuchten Bakterien, wie Micrococcus progrediens und Streptococcus gracilis, bereits an der Grenze des mit gewöhnlichen Immersionen bei weißem Licht überhaupt Sichtbaren liegt. Nach der Abbe-Helmholtzschen Bezeichnung $d \geqq -\frac{\lambda}{2a}$, in welchem Ausdruck λ die Wellenlänge des Lichtes und a die numerische Apertur des verwendeten Objektives bedeutet, mißt der kleinste noch auflösbare Abstand zweier Punkte für Natriumlicht ($\frac{\lambda}{D} = 0.00589\ \mu$) bei einer Apertur von 1.30 im äußersten Falle 0.23 μ (d), was etwa dem Durchmesser der kleinsten Kugelbakterie gleichkommt. Den Maßangaben müssen aber auch genaue Daten über die Kultur, die Ernährungsverhältnisse und die Züchtungstemperatur beigefügt werden, wenn sie allgemein verwertbar sein sollen.

Die Bakterien umfassen die kleinsten bisher beobachteten Organismen. Sie messen im kürzesten Durchmesser meistens kaum 1 Mikron. Wir finden unter den Bakterien aber auch Riesen. Viel Wahrscheinlichkeit hat die Ansicht, daß es noch kleinere und vielleicht einfachere organisierte Lebewesen (Bakterien) gibt, für deren Existenz Kulturversuche sprechen, deren Bau aber erst durch eine entsprechende Verwendung kurzwelligen Lichtes etwas aufgehellt werden kann.

Die folgende Zusammenstellung enthält eine Reihe von Größenangaben über Kugel-, Stäbchen- und Schraubenbakterien; bei letzteren entspricht die Längenangabe nicht der wahren Zellenlänge, sondern der Höhe der von der Zelle gebildeten Schraube.

		Durchmesser:
Kugelbakterien	1. Micrococcus progrediens	0.15 μ
	2. Micrococcus ureae Cohn	1—1.5 μ
	3. Sarcina maxima	4 μ
	4. Thiophysa volutans (Schwefelbakterie)	7—18 μ

		Länge:	Breite:
Stäbchenbakterien	5. Pseudomonas indigofera	0.18 μ	0.06 μ
	6. Influenzabacillus	bis 4.2 μ	0.4 μ
	7. Methanbacillus	5 μ	0.4 μ
	8. Urobacillus Duclauxii Miquel	2—10 μ	0.6—0.8 μ
	9. Bacillus nitri Ambrož	3—8 μ	2—3 μ
	10. Beggiatoa alba (Schwefelbakterie)	2.9—5.8 μ	2.8—2.9 μ
	11. Chromatium Okenii (Schwefelbakt.)	10—15 μ	5 μ
	12. Beggiatoa mirabilis (Schwefelbakt.)	20—25 μ	40—50 μ
	Spirillum volutans	10—20 μ	1.5—2 μ

Noch besser soll folgende in Figur 10 gegebene schematische Zusammenstellung die Größenverhältnisse veranschaulichen. Hier sind die genannten Kugelbakterien durch schwarze Kreise angedeutet, während die Stäbchenbakterien durch schwarze Rechtecke in 2000-facher Vergrößerung zur Darstellung gelangen. Die beigesetzten Ziffern entsprechen denen der obigen Zusammenstellung.

Durch die Betrachtung der Figur 10 gewinnt man erst eine richtige Vorstellung von den Größenunterschieden, die die verschiedenen Bakterienarten untereinander aufweisen. Von der Kleinheit dieser Organismen bekommt man einen richtigen Begriff, wenn man die größten unter den Bakterien mit Objekten bekannter und geläufiger Größe vergleicht, wie etwa mit derjenigen des menschlichen Kopfhaares. Die Zellbreite von Beggiatoa mirabilis, der größten bekannten Bak-

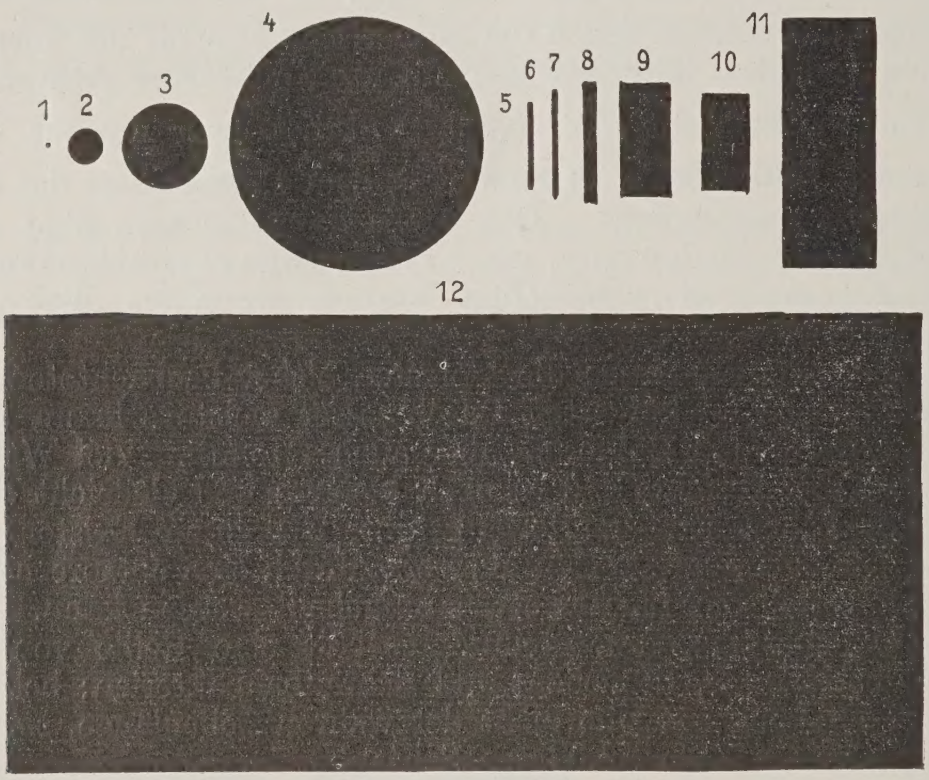


Fig. 10.

terienart, mißt im Maximum etwa soviel wie die Dicke eines dünnen menschlichen Kopfhaares, während die Länge der Zelle etwa halb soviel ausmacht. Man kann also einen Zellfaden dieser Schwefelbakterie mit freiem Auge noch ganz gut wahrnehmen, während selbstverständlich die einzelnen Zellen dabei nicht sichtbar sind. Die kleinen Bakterien sind in bezug auf ihre Dicke und Länge ja sehr viel kleiner, denn man könnte beispielsweise von den meisten Kugelbakterienarten längs des Durchmessers eines Haares ungefähr 50 Stück aneinanderreihen, um ihn ganz zu belegen.

Die kleinsten Bakterien sind tatsächlich schon an der Grenze des überhaupt mit den besten optischen Hilfsmitteln Sichtbaren. Wir verfügen allerdings heute über neue Einrichtungen, die eine wesentlich stärkere Vergrößerung zulassen und kleinste Teilchen unter der Wellenlänge des Lichtes zu beobachten gestatten. Unter Anwendung von kurz-

welligem (ultraviolettem) Lichte in der Mikrophotographie gelingt es, kleinste Objekte bei Vergrößerungen bis zu 4000fach linear abzubilden. Andererseits ermöglicht das Ultramikroskop von Siedentopf und Zsigmondy den Nachweis kleinster Teilchen, deren Größe nur mehr Millionstel eines Millimeters beträgt. Trotz dieser Hilfsmittel ist es den Mykologen bisher nicht gelungen, kleinere Organismen als die kleinsten Bakterien morphologisch zu definieren.

Entsprechend der verschiedenen Größe besitzen die Bakterien auch eine verschieden große Oberfläche und ein verschieden großes Volumen. Bei gleichem Volumen ist die Oberfläche der Kugelbakterien kleiner als diejenige der übrigen Bakterien. Auch wird mit zunehmendem Volumen die Oberfläche relativ kleiner, wie man sich rechnungsmäßig sofort überzeugen und aus folgendem Beispiel ersehen kann.

Die Oberfläche einer Kugelbakterie betrage 12.57 μ^2, was einem Radius von 1 μ und einem Volumen von 4.19 μ^3 entspricht. Eine Kugelbakterie von doppelt so großer Oberfläche, also 25.14 μ^2 hat fast den dreifachen Rauminhalt, denn er beträgt in diesem Falle 11.85 μ^3.

C. Involutionsformen.

Wir haben bisher nur Bakterienformen in den Kreis unserer Betrachtungen gezogen, die sich bei der Teilung wieder reproduzieren, also Tochterindividuen erzeugen, die den Mutterzellen in jeder Beziehung gleich sind. Es treten uns die Bakterien aber auch in zahlreichen anderen Formen entgegen, die wir in das oben aufgestellte Schema der drei Grundtypen nicht mehr einreihen können und die überhaupt nicht mehr zu Teilungen schreiten oder höchstens anders gestaltete Bildungen abschnüren oder zu solchen zerfallen.

Wir müssen hierher alle Formen rechnen, die nicht zum normalen Entwicklungskreis gehören oder zu einem besonderen Dauerzustand führen. So dokumentieren sich die Absterbeerscheinungen bei den Bakterien in vielen Fällen durch das Auftreten besonderer Wuchsformen, aus denen schließlich nicht mehr teilungsfähige und überhaupt lebensfähige Produkte hervorgehen, die alsbald dem Tode und Zerfall anheimfallen. Solche Formen können rasch unter ungünstigen äußeren Lebensbedingungen zustande kommen oder sich durch Generationen hindurch langsam aber stetig ausbilden. Dies gilt für Fälle, wo Bakterien in Reinkulturen dauernd unter Bedingungen gezüchtet werden, die zwar nicht unbedingt tötend auf die Zellen wirken, aber doch leicht schädigend. Obwohl sicherlich eine ziemlich ausgiebige Anpassungsfähigkeit für die Bakterien erwiesen ist, so kommt es doch schließlich zu Generationen, die sich nur mehr schlecht vermehren und Degenerationsformen aufweisen. Man bezeichnet alle diese Formen als Involutionsformen. Sie sind aber mitunter schwierig von den später zu besprechenden „teratologischen Wuchsformen“ und Formen zu unterscheiden, die auch normalerweise im Entwicklungskreis einer bestimmten Bakterienart auftreten.

Involutionsformen im strengen Sinne des Wortes sind also alle jene Wuchsgestalten, die nicht mehr wachstumsfähig sind und nicht in den normalen Formenkreis einer Bakterienart gehören. Beim Übergang einer Bakterienart in das Stadium des

Absterbens beobachtet man mitunter allerdings Wuchsgestalten, die, rechtzeitig in günstige Lebensbedingungen zurückgebracht, sich wieder vollständig regenerieren können. Sie sollen ebenfalls zu den Involutionsformen gerechnet werden. Sie sind meist von unregelmäßiger Gestalt, kugelig, blasig und kolbig und bedeutend größer als die typische und reguläre Form. In vielen Fällen entstehen aus den normalen Stäbchen ungeheuer lange, unregelmäßig gekrümmte Fadenbildungen, deren Dicke sehr ungleich ist. Es sind Riesenbildungen, welche gewöhnlich in kurzer Zeit absterben und zerfallen.

D. Teratologische Wuchsformen.

Zu Formen, die den Involutionsformen äußerlich ähnlich oder gleich sind, kommt es auch, wenn spezifische chemische Wachstumsreize auf die Zelle einwirken, die aber nicht schädigend sind. Auch physikalische Einflüsse führen zu besonderen Wuchsgestalten. Diese Wuchsformen, die keineswegs als Ausdruck einer Degeneration aufgefaßt werden dürfen, können wir mit Maaßen unter der Bezeichnung „teratologische Wuchsformen" zusammenfassen. Die Anwesenheit gewisser Salze im Nährsubstrat, wie Ammoniumchlorid, Magne-

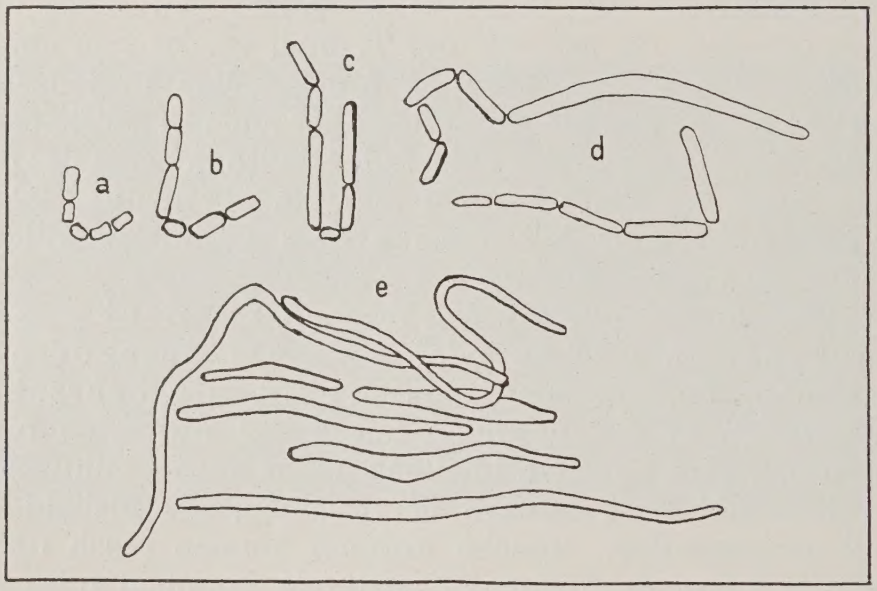


Fig. 11.

siumchlorid, Kochsalz u. a. in etwas vermehrter Menge löst das Auftreten solcher Gestalten aus. Die einzelnen Bakterienarten reagieren in dieser Hinsicht verschieden gegen die Salze und zeigen ein ellektives oder auswählendes Verhalten. Sobald solche Formen in Nährlösungen gebracht werden, denen diese Salze fehlen oder nur in sehr geringer Menge zugesetzt sind, nehmen sie die ursprüngliche Form alsbald an und vermehren sich in gewöhnlicher Weise. Auch Temperaturen über dem Optimum wirken als Reiz für die Bildung teratologischer Wuchsformen. Dies zeigen sehr instruktiv die meisten Essigbakterien. So bildet nach den Untersuchungen Emil Christian Hansens Bacterium Peusteurianum, eine Essigbakterie, bei der Zucht in Doppelbier und bei 34° C lange Ketten, die aus gleichmäßig großen Stäbchenbakterien bestehen, wie es *a* der Figur 11 zeigt. Verimpft man nun von diesen

Ketten auf Doppelbier-Agar und hält diese Kultur bei ca. **40.5°** C, dann findet im Laufe der weiteren Entwicklung eine völlige Umwandlung der Form statt, wie es *b*—*e* dieser Figur dartut. Schon nach fünf Stunden sind die einzelnen Zellen der Kette vergrößert (*b*, Figur 11), noch mehr nach neun Stunden (*c*, Figur 11). Nach zehn Stunden sind die Stäbchen schon sehr beträchtlich vergrößert (*d*, Figur 11), und nach 21 Stunden finden sich nur mehr enorm lange Fäden und riesig verdickte Formen, wie es *e* der Figur 11 aufweist. Sämtliche Zeichnungen dieser Figur sind bei 2000facher Vergrößerung angefertigt und nach Hansens Abbildungen wiedergegeben.

Kommen die nach 21 Stunden ausgebildeten Riesenwuchsformen wieder in die für diese Essigbakterie günstigste Temperatur von **34°** C, dann findet eine Neubildung der Kurzstäbchen über eine Reihe neuer Formen hinüber statt, wie es ebenfalls nach Hansens Zeichnungen in der folgenden Figur 12 zur Anschauung gebracht ist. Die Fadenformen vergrößern sich noch mehr und bilden Anschwellungen aus, wie es *a* der Figur 12 zeigt. Diese Erscheinung tritt schon nach kurzem Aufenthalt der Fäden in der günstigen Temperatur (vier Stunden bei der abgebildeten Zelle *a*, Figur 12) auf. Nach fünf Stunden (*b* der Figur 12) sind die Zellen schon sehr angeschwollen, und alsbald schnüren sich von den verjüngten Enden der Anschwellungen die normalen Kurzstäbchen ab, wie es in *c* dieser Figur bereits angedeutet ist.

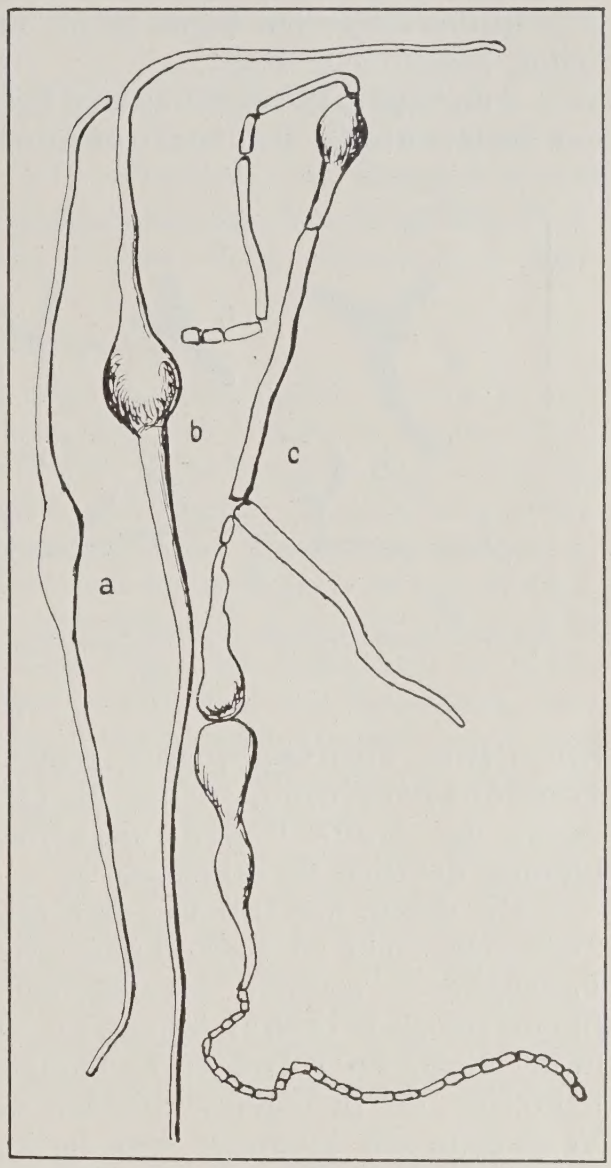


Fig. 12.

E. Verzweigte Formen.

Außer den genannten Gestalten finden wir bei den vegetativen Zellen noch echt verzweigte Formen.

Diese Erscheinung findet sich im Reich der Bakterien nicht allzu häufig, kann aber gelegentlich bei jeder Bakterienart auftreten, wie aus den zahlreichen Befunden hervorgeht. Jedenfalls sind es keine immer auftretenden Entwicklungsformen, obwohl sie gewiß mit Degenerationserscheinungen nichts zu tun haben. In einzelnen Fällen hat es geradezu den Anschein, als führe die verzweigte Form zu gewissen Dauerzellen, wie später dargetan werden soll. Wieder in anderen Fällen stellen

sich Verzweigungen ohne weitere kolbige Anschwellungen dann ein, wenn die Ernährungsbedingungen mit zunehmendem Alter der Bakterienkultur ungünstig werden. Hier ist ihnen der Involutionscharakter allerdings nicht ohne weiteres abzusprechen. Eine Reihe von menschenpathogenen Bakterienarten neigt besonders zur Ausbildung von Verzweigungen mit oder ohne kolbige Auftreibungen derselben, wie der Tuberkelbacillus, Diphtheriebacillus und auch Rotzerreger.

In der folgenden Figur 13 ist eine Reihe von verzweigten Bakterienzellen zusammengestellt.

A der Figur 13 zeigt uns eine Verzweigung der Essigbakterie Bacterium aceti, *b* des

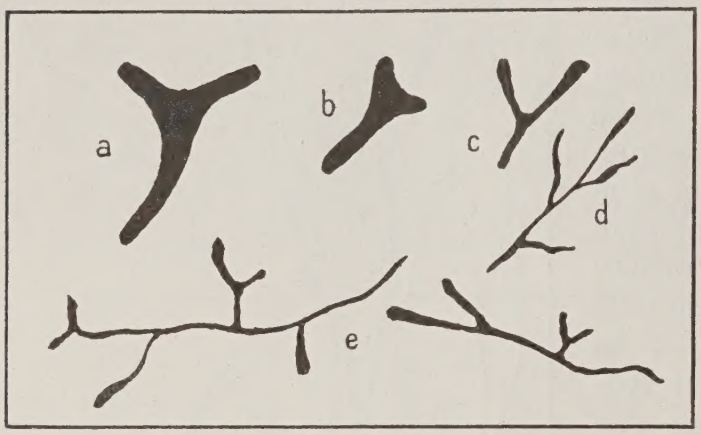


Fig. 13.

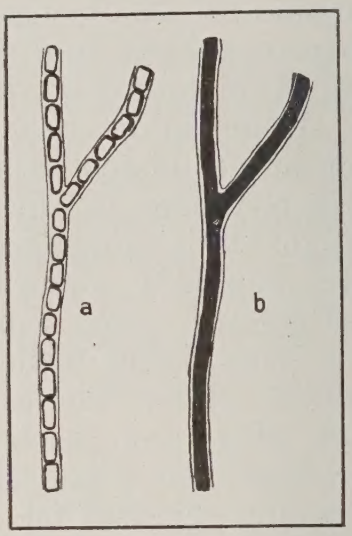


Fig. 14.

Spirillum volutans, einer großen Schraubenbakterie, *c* des Diphtheriebakteriums, *d* des Rotzbakteriums und endlich *e* des Erregers der Menschentuberkulose, wo ebenso wie bei *c* die Kolbenbildung deutlich zu erkennen ist.

Mit diesen echten Verzweigungen sind jene Verzweigungen eines Zellfadens nicht zu verwechseln, die dadurch zustandekommen, daß sich Fadenglieder seitlich hinausschieben und dann weiterteilen. Wir finden solche falschen Verzweigungen oder Pseudoramifikationen in der Regel bei einzelnen Fadenbakterien und auch kleineren Stäbchenbakterien, die in Fädenverbänden wachsen. Verwechslungen mit echten Verzweigungen kommen sehr leicht bei der Durchforschung gefärbter Präparate vor, da hier die Farbschichte sehr häufig einen Zusammenhang einzelner Zellen vortäuscht. Figur 14 zeigt uns in *a* den ungefärbten Zellfaden, in dem die einzelnen Glieder gut zu erkennen sind und wo sich von einer herausgeschobenen Zelle ein zweiter Faden entwickelt hat. Im gefärbten Zustande, dem *b* dieser Figur entspricht, sieht man keinen Zusammenhang mehr, was den Eindruck einer echten Verzweigung hervorbringt, obwohl in Wirklichkeit nur eine Pseudoramifikation vorliegt.

F. Pleomorphie.

Wenn man auch aus der bisherigen Darstellung den Eindruck einer reichen Formenfülle bei den Bakterien gewinnen konnte, darf man trotzdem nicht von einer Pleomorphie dieser Organismen sprechen. Zahlreiche Forscher vertraten die Anschauung daß uns ein- und dieselbe

Bakterienart in vielerlei Gestalt mit recht verschiedenen Äußerungen gegen die umgebenden Stoffe entgegentreten könne. Ja, man meinte sogar, daß die Bakterien nur einen bestimmten Entwicklungszustand höher organisierter Pilze vorstellen. Diese Eigenschaft der Vielförmigkeit der reproduzierbaren Formen einer Bakterienart bezeichnete man als Pleomorphie und bemühte sich dementsprechend auch, die verschiedenen Formen und Arten ineinander umzuzüchten. Aber alle angeblich erfolgreichen Versuche dieser Art hielten einer einwandfreien und strengen Nachprüfung nicht stand.

Wenn wir daher unter Pleomorphie einer Bakterienart nur das Auftreten verschiedener Wuchsgestalten im Entwicklungskreis einer einzelnen Bakterienart verstehen, ist dagegen nichts einzuwenden; die oben gegebene weitere Fassung des Begriffes Pleomorphie ist aber als unbegründet, oder zumindset nicht bewiesen, abzulehnen.

G. Bau der Bakterienzelle.

In den allermeisten Fällen kann man bei den Zellen den feineren Aufbau, nach einem allgemein gültigen Schema vollzogen, beobachten. Die vielen Befunde an Bakterien hinsichtlich ihres feineren Baues und des Vorhandenseins der für Zellen allgemein geforderten Bestandteile rechtfertigen die Annahme, daß wir in den Bakterien vollwertige Zellen zu erblicken haben. Es gebührt A. Meyer und seiner Schule das Verdienst, hinsichtlich der Bakterienzelle derart grundlegende Arbeiten geliefert zu haben, daß es keine Zweifel mehr geben kann, die Bakterien als echte Zellen zu betrachten und ihren Aufbau zwanglos in ein Zellschema einzuordnen. Im Sinne der Meyerschen Forschungsergebnisse kann man an einer Bakterienzelle einen Protoplasten mit allen seinen Organen und Bildungen und ergastische Gebilde unterscheiden.

Der Protoplast umfaßt die protoplasmatischen Organe, jene protoplasmatischen Bildungen, die in der Zelle nicht mehr neu entstehen, sondern nur aus der Teilung der Zelle in die Tochterzellen hervorgehen und sich durch diesen Teilungsprozeß vermehren, um durch Zuwachs die normale Größe zu erlangen, und die alloplastischen Gebilde, die nach A. Meyer durch eine Umgestaltung eines Teiles des normalen Zytoplasmas entstehen und besonders morphologisch und physiologisch differenziert sind.

Als protoplasmatische Organe haben wir das Zytoplasma, die zum Zytoplasma gehörigen Plasmodesmen und endlich den Zellkern aufzufassen. An alloplasmatischen Gebilden finden wir bei vielen Bakterienarten Geißeln, an ergastischen Gebilden finden wir die Zellmembran, die Zellsaftvakuolen, die stickstofffreien Reservestoffe, die stickstoffhaltigen Reservestoffe, Schwefeleinschlüsse und im Zellinnern befindliche Farbstoffe.

a) Protoplasmatische Organe.

1. Das Zytoplasma.

Dasselbe ist vollkommen homogen und enthält eine Reihe von Einschlüssen, die entsprechend ihrer Herkunft in eine der oben genannten Gruppen von Bildungen hineingehören. Die durch ein verschiedenes

Lichtbrechungsvermögen oder durch färberische Erscheinungen sichtbar werdende Inhomogenität kann sich also bei genauer Untersuchung als ein alloplastisches oder ergastisches Gebilde entpuppen. Dabei ist die Konsistenz des Zytoplasmas in der Zelle durchaus nicht überall die gleiche. So scheint die Beschaffenheit gegen die Wand zu dichter oder dickflüssiger und gegen das Innere zu wasserreicher und dünnflüssiger zu sein. Die im Zytoplasma liegenden Einschlüsse lassen ersteres als netz- oder wabig-strukturiert erscheinen, ohne daß dadurch seine homogene Beschaffenheit gestört würde. Das Zytoplasma ist farblos und mäßig lichtbrechend. Die bei Abtötung des Zytoplasmas auftretenden Strukturen, wie sie auf die Fixierung folgende färberische Maßnahmen hervorrufen, entsprechen keineswegs unter allen Umständen schon lebend präformierten und während des normalen Zellenlebens schon vorhandenen strukturellen Bildungen und müssen daher mit größter Vorsicht gedeutet werden. Behandelt man lebende Oidien, also vegetative Bakterienzellen, mit verdünnter Jodjodkaliumlösung, tritt eine Gelb- bis Braunfärbung des Zytoplasmas auf, ohne daß im homogenen Inhalt eine Struktur herauskommt. Sehr verdünnte Methylenblaulösungen oder Lösungen von Neutralrot, wie sie zur sog. Vitalfärbung verwendet werden, bewirken eine Lichtblau- bzw. Rosafärbung des Zytoplasmas. Javellesche Lauge löst das Zytoplasma rasch und leicht.

Auffallend und keineswegs vollständig erklärbar ist das Verhalten des Zytoplasmas bei der Färbung nach Gram. Bei dieser Färbung wird das eingetrocknete und durch Hitze fixierte Bakterienmaterial zuerst in einer Anilinwasser-Gentianaviolettlösung gefärbt, dann mit einer verdünnten Jodjodkaliumlösung behandelt und schließlich in Alkohol entfärbt. Dabei zeigen viele Bakterienspecies die Eigentümlichkeit, den Farbstoff im Zytoplasma sehr lang und fest zurückzuhalten, während andere sich außerordentlich rasch wieder entfärben. Erstere bezeichnet man vielfach als gram-positiv oder gramfest, letztere als gram-negativ oder nicht gramfest. Die Annahme A. Meyers, daß die mehr oder minder stark ausgeprägte Gramfestigkeit auf den mehr oder minder großen Reichtum an Trockensubstanz des Zytoplasmas zurückgeht, scheint sehr viel für sich zu haben, zumal gerade das an Trockensubstanz sehr reiche Sporenzytoplasma ebenfalls sehr gramfest ist. Auch hat es sich gezeigt, daß die fettspeichernden Bakterien im allgemeinen gramfest sind, so daß auch die Annahme eines Einflusses des vorhandenen Fettes auf die Gramfestigkeit voll gerechtfertigt erscheint.

Viele Bakterienarten zeigen auch die Eigenschaft, den einmal im Zytoplasma festgelegten Farbstoff bei Säurebehandlung sehr hartnäckig zurückzuhalten. Auf dieser Erscheinung baut sich die bekannte Säurefestigkeitsmethode Ehrlichs auf, die zuerst schon im Jahre 1882 von ihm zur Sichtbarmachung der Tuberkelbazillen verwendet worden ist, und darauf beruht, die eingetrockneten und in der Hitze fixierten Bakterien mit Anilinwasserfuchsin oder Anilinwassergentianaviolett intensiv zu färben und die gefärbten Bakterien mit verdünnter Salpetersäure zu behandeln. Ziehl verwendete später als stark färbende Farbflotte eine Lösung von Fuchsin in verdünnter Karbolsäure, die er kochend gebrauchte. Dann entfärbte er kurz in verdünnter Schwefelsäure. Als Ursache der Säurefestigkeit gewisser Bakterien kann mit

vieler Wahrscheinlichkeit der größere oder geringere Fettgehalt angenommen werden.

2. Plasmodesmen.

Schon bei der Behandlung der äußeren Form der Bakterien wurde auf die Bildung von Zellfäden hingewiesen, die durch das Aneinanderhaften der Teilungsprodukte zustandekommen. In diesen Fällen hat man vielfach die Beobachtung gemacht, daß zwischen den einzelnen Zellen des septierten Fadens eine Plasmabrücke besteht, eine Plasmodesme. Diese tritt bei entsprechend durchgeführter zarter Methylenblaufärbung mitunter äußerst deutlich als dünner, hellblau gefärbter Verbindungsfaden zwischen den benachbarten Zellen hervor. Es ist durchaus nicht verwunderlich, die bei Pflanzenzellen so vielfach zu findenden Plasmodesmen auch bei den durch Bakterien gebildeten Zellfäden wiederzufinden, wenn man den Vorgang der Spaltung selbst im Auge behält. Bei der Teilung der Bakterien schiebt sich von außen nach innen ringartig eine Querwand ein, die sich im Zentrum des Ringes, solange die Zellen im Verband verbleiben, eben nicht vollkommen schließt. So muß eine zentrale Verbindung in Form eines feinen Zytoplasmafadens in diesem Stadium der Entwicklung zwischen den Tochterzellen bestehen bleiben.

3. Der Zellkern.

Im Protoplasma finden wir nun eine Reihe von geformten Einschlüssen, die als feine Kügelchen oder Tropfen auftreten oder aber untereinander netzartig verbunden erscheinen. Gegenüber Färbungsprozessen erweisen sie sich verschieden. Schon sehr früh wurde auf solche Granula von verschiedenen Seiten aufmerksam gemacht und ihnen mancherlei Rolle im Zellhaushalt zugedacht. Einige Forscher wollen in einzelnen von ihnen auch den Kern der Bakterienzelle erblicken. Um die Bakterien mit Recht als Zellen bezeichnen zu dürfen, müssen wir tatsächlich auch einen Kern in ihnen nachgewiesen haben.

Die Kernfrage bei den Bakterien ist bis heute nicht im eindeutigen Sinne gelöst, obwohl die Lösung derselben viele Forscher beschäftigt. Die erhaltenen Ergebnisse sind so außerordentlich verschieden, daß sie derzeit unmöglich zur Aufstellung eines einheitlichen Begriffes vom Bakterienkerne verwendet werden können. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Kernverhältnisse bei den einzelnen Bakterienarten außerordentliche Verschiedenheiten aufweisen. Entsprechend dem Entwicklungszustande muß der Kern auch bei ein und derselben Zelle verschiedene Gestalten besitzen, da er in inniger Beziehung zur Vermehrung und Teilung derselben steht. Auch wird der Kern keineswegs als einheitliches Gebilde mit allen morphologischen Bestandteilen des Zellkernes von Zellen höherer Organismen auftreten müssen, da wir es ja mit den niedrigsten Organismen zu tun haben. Sicherlich enthält er aber in chemischer Hinsicht alle Stoffe, die auch den Kern höherer Zellen zusammensetzen. Auch die Teilungsvorgänge werden anders morphologisch charakterisiert und mit größter Wahrscheinlichkeit einfacher gestaltet sein als beim Kern der vielzelligen Organismen. Eine lückenlose Beobachtung des ganzen Kernteilungsvorganges mit allen dabei auftretenden Formveränderungen ist wegen der Kleinheit der Objekte

und wegen der Menge anderer Zelleinschlüsse bei der lebenden Bakterienzelle kaum durchführbar.

Nach allen Untersuchern, die überhaupt einen Kern oder eine Kernsubstanz in der Bakterienzelle nachgewiesen haben, ist die Organisation der Kerngebilde bei den Bakterienarten sehr verschieden. In den allerjüngsten Entwicklungsstadien scheint ein bestimmt geformter Kern mitunter sehr schwer oder gar nicht nachweisbar. In diesen Fällen dürfte der Kern als „chromidiales System" Hertwigs aufzufassen sein, das aus äußerst fein verteiltem Chromatin besteht. Bei vielen Bakterien

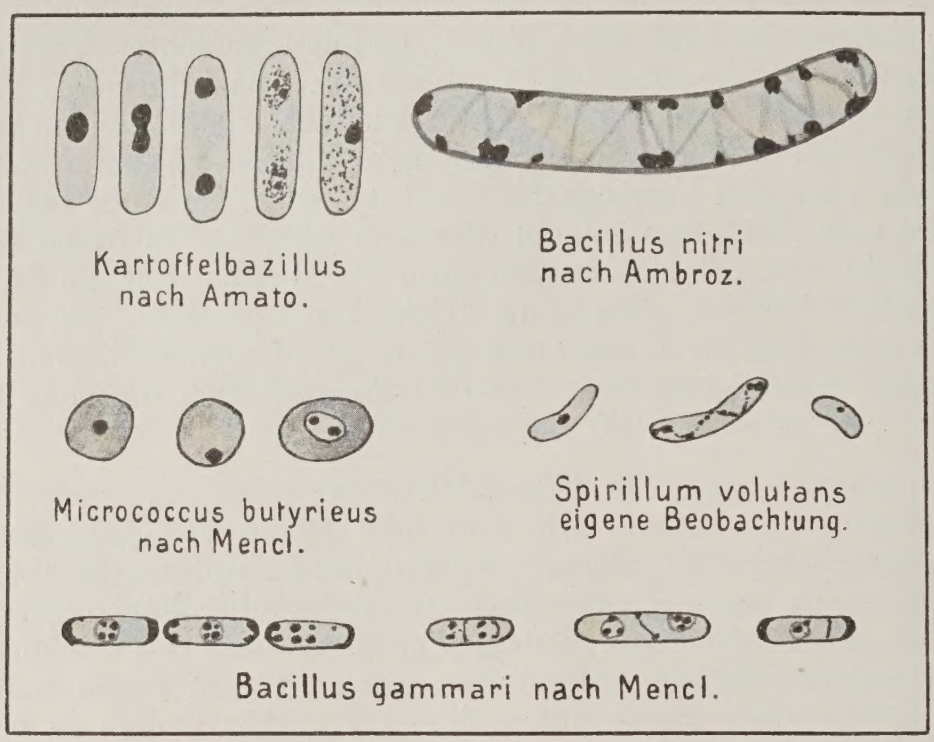


Fig. 15.

enthalten die jugendlichen Zellen ein Chromatinkorn, das nach A. Meyer u. a. als Kern aufzufassen ist und sich bei der weiteren Entwicklung in mehrere Stücke aufteilt. In der Tat zeigen z. B. die jüngsten Zellen von Spirillum volutans nur ein einziges Korn, das sich bei der Behandlung mit essigsaurer Methylgrünlösung gut färbt. Später findet man mehrere Körnchen, die durch ein Netzwerk verbunden erscheinen. Letzteres zeigt häufig eine spiralige Anordnung, wie es auch Swellengrebel für den „Spiralkern" von Bacillus maximus bucealis, Ambrož und Ružička für den Kern von Bacillus nitri u. a. angeben. Bei anderen Bakterien finden wir wieder in der Jugend entweder ein „chromidiales System" oder ein Chromatinkorn als Kern. Im ersteren Falle findet meist eine Verdichtung des Chromidialapparates zu einem geschlossenen Chromatinkorn statt, das sich in der Folge dann vergrößert, längsstreckt und schließlich ohne Ausbildung irgendeines Spindelapparates teilt. Es kann auch zur Zerschnürung in mehrere Teilstücke kommen, die ebenfalls Kugelgestalt aufweisen. Vor der folgenden Teilung scheint es wieder zu einer feinen Verteilung der Chromatinmassen zu kommen, die sich später wieder zu kompakteren Kerngebilden vereinigen. Es dürften aber auch kompliziertere Teilungserscheinungen beim Bakterienkern vorkommen, da Mencel Kerne mit

Kernmembran und bei der Teilung sich verdoppelnden Chromosomen bei einigen Bakterien beschreibt und abbildet. Einen kurzen Überblick über die Kernformen der vegetativen Bakterienzellen soll folgende Figur 15 geben, in der eine Reihe von Kernbefunden nach verschiedenen Autoren zusammengestellt ist, die aber natürlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit erhebt. Die Figuren sind in bezug auf die äußere Zellgestalt etwas schematisiert.

Wir sehen hier den Kern des Kartoffelbacillus entweder als homogenes Kügelchen oder in feinste Körnchen und Granula aufgelöst, oder endlich in beiden Formen in der gleichen Zelle. Der Bacillus nitri zeigt uns eine „Kernspirale" mit eingelagerten Chromatinbröckchen. Im Micrococcus butyricus gewahrt man nur kompakte Kerne, während Spirillum volutans nach Methylgrünfärbung entsprechend dem Entwicklungszustand einen größeren oder kleineren Kern oder eine Art Kernspirale aufweist. Kompliziertere Verhältnisse findet man beim Bacillus gammari, wo wir in der Tat die Chromatinmasse in eine Art Chromosomen von bestimmter Anzahl und Anordnung aufgeteilt sehen und eine Kernmembran entwickelt finden. Daneben fällt in vielen Fällen noch eine polare Anhäufung von Kernsubstanz auf.

Man kann im allgemeinen sagen, daß den Bakterien ebenfalls ein Kern zukommt, wie allen anderen Zellen, nur erscheint er in den verschiedensten Formen, vom Hertwigschen Chromidialnetz oder chromidialen System angefangen bis zu kompakten Gebilden, deren Teilung sehr einfach sein kann oder auch schon die Erscheinungen einer zumindest vereinfachten Mitose aufweist.

Die Anschauung von einer ständigen Umbildung von Zytoplasma in Kernsubstanz und umgekehrt ist durchaus berechtigt und die Labilität dieser Zellbestandteile durch Untersuchungen von Ružička u. a. erwiesen. Andererseits sind wir aber nicht befugt, den Bakterienkörper entweder für einen kernlosen Organismus oder für einen nackten Kern ohne Zytoplasma zu erklären.

b) Alloplastische Gebilde.
(Bakteriengeißeln.)

Bei der Untersuchung von Bakterien im hängenden Tropfen gewahrt man viele Arten, deren Zellen mit mehr oder minder großer Geschwindigkeit unter Beschreibung verschiedener Bewegungsbahnen in der Flüssigkeit sich bewegen. In allen Fällen mit wenigen Ausnahmen, welche Schwefelbakterien betreffen, wird diese Bewegung der Bakterien durch besondere Organellen ausgeführt, die man als Geißeln oder Geißelfäden bezeichnet. Dieselben sind so zart, daß sie an dem lebenden Objekt während der Bewegung wenigstens bei allen kleinen Bakterien unsichtbar bleiben. Nur an den großen Schraubenbakterien sieht man sie ab und zu gleichsam aufblitzen, wenn sie sich zu einem Bündel zusammengelegt haben. Mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung gelingt es aber leicht, auch an den meisten kleineren Bakterien die Geißeln während der Bewegung zu beobachten. Allerdings sieht man in diesem Falle nicht die einzelnen Geißelfäden, sondern einen dickeren Geißelstrang. Auch im Dunkelfeld kann man die einzelnen Geißelfäden nur an den großen Spirillen unmittelbar

beobachten. Nach den interessanten Untersuchungen Reicherts über die Sichtbarmachung der Geißeln überhaupt und besonders mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung ergeben sich gewisse Gesetzmäßigkeiten hinsichtlich der Natur dieser Gebilde. Bei der Sichtbarmachung der Geißeln sind danach die osmotischen und optischen Verhältnisse des Aufschwemmungsmittels vollständig bedeutungslos, während dafür die chemischen Eigenschaften desselben ausschlaggebend sind.

Im allgemeinen befördern die Salze und Säuren die Sichtbarmachung, während dazu die starken Basen überhaupt unbrauchbar sind. Die Nichtelektrolyten erweisen sich in der Regel als nur wenig wirksam. In Kolloiden, wie Gummi, Leim usw., sind die Bazillengeißeln besonders gut darstellbar. Die Wirkung der hier in Frage kommenden Elektrolyten, Schwefelsäure, Salzsäure usw. und deren Salze folgt dabei ähnlichen Gesetzen, wie sie für die Ausfällung von Hydrosolen und Suspensionen durch Elektrolyte gefunden worden sind. Bekanntlich verlaufen dieselben immer mit einer Absorption, was auch hier für die Sichtbarmachung von ausschlaggebender Bedeutung sein dürfte.

Auch das Zusammenlagern der Einzelgeißeln zu Geißelzöpfen während der Bewegung fördert sehr die Möglichkeit des Sichtbarwerdens, da selbst beim Vorhandensein zartester Geißelfäden die Geißelpakete immer noch Dimensionen annehmen, die mikroskopisch gesehen werden können, wenn auch die einzelne Faser submikroskopische Abmessungen aufweist. Beim Tode der Bakterien lösen sich die Geißelzöpfe nur in elektrolytfreien Medien wieder in die Einzelgeißeln auf, während beim Vorhandensein von Elektrolyten eine Entfaltung nicht erfolgt. Die Zopfbildung ist besonders in zähflüssigen Substraten gut ausgebildet, weshalb bei der Darstellung der Geißeln im Dunkelfeld die kleinen Bakterien in solchen Flüssigkeiten, wie beispielsweise in einprozentiger Gelatinelösung, aufgeschwemmt werden müssen.

An getöteten Bakterien werden die Geißeln durch besondere färberische Maßnahmen und Verfahren zur Ansicht gebracht, wobei aber auch bei der Vorbehandlung der Präparate nach den eben gegebenen Andeutungen zu verfahren ist. Dann ist noch zu beachten, daß die Geißeln in allen gefärbten Präparaten sehr verdickt erscheinen. Die Form der Geißeln ist in solchen Präparaten von fixierten Zellen mitunter wesentlich anders als im lebenden Zustande.

Die Geißeln der lebenden Bakterienzelle sind strukturlos und homogen und zeigen neben Doppelbrechung ein sehr hohes Lichtbrechungsvermögen. Ganz allgemein kann man dieselben als feine, fädige Zytoplasmaanhänge von verschiedener Länge und Dicke auffassen. In bezug auf die Länge und Dicke herrscht bei den einzelnen Arten eine gewisse Konstanz, wenn man Durchschnittswerte größerer Meßreihen verwendet. Bei den Bakterienarten, die mehrere Geißeln tragen, sind diese untereinander keineswegs gleich, sondern weisen hauptsächlich hinsichtlich der Länge nennenswerte Differenzen auf. Die Dicke der Geißeln ist bei den verschiedenen Bakterienspezies ebenfalls verschieden und ziemlich unabhängig von der Größe der Bakterienart. Im allgemeinen besitzen diejenigen Bakterienarten dünnere Geißelfäden, die Geißeln in größerer Anzahl tragen. Die absolute Dicke der Geißeln weist Abmessungen auf, die weit unter Zehnteln eines Mikrons liegen. Die

einzelnen Geißelfäden von dem großen Spirillum volutans sind nur 0,02—0,05 μ dick.

Die Ansatzstellen der Geißeln an den Bakterienzellen zeigen nun eine Gesetzmäßigkeit. Wenn nur ein Geißelfaden ausgebildet wird, dann sitzt derselbe bei den Stäbchenbakterien an einem Pole der Zelle.

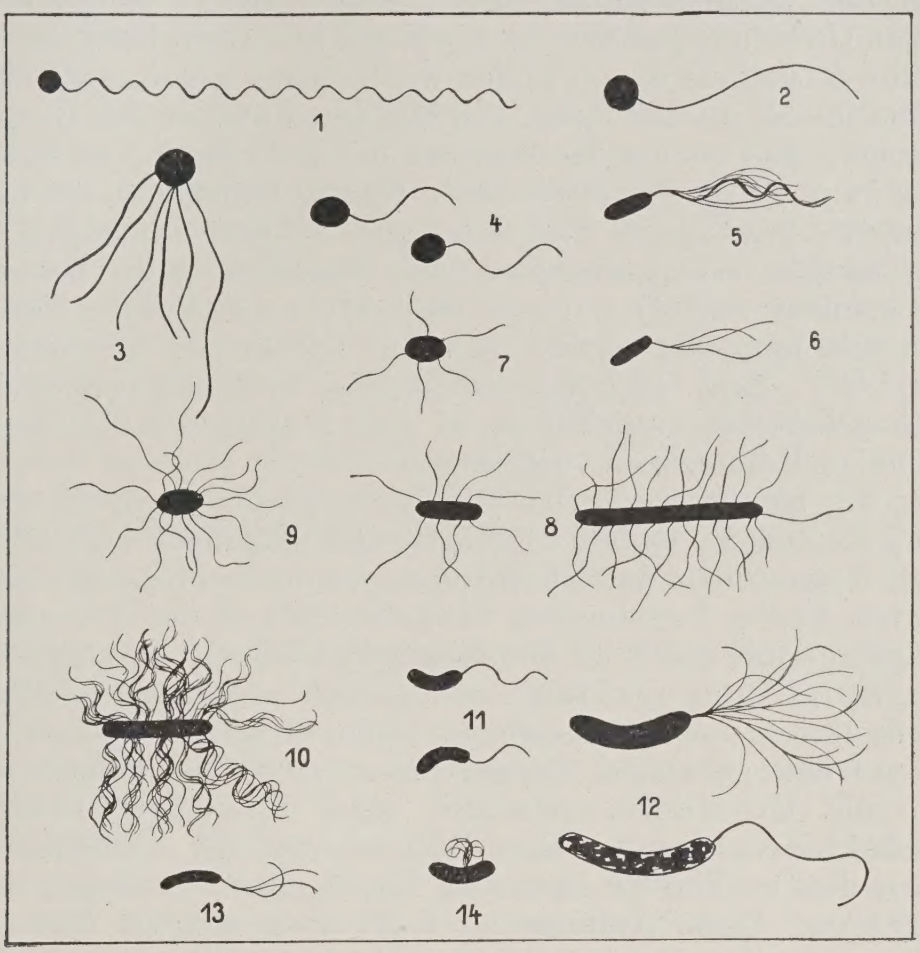


Fig. 16.

Bei den Kugelbakterien kann natürlich von einer polaren Begeißelung nicht gesprochen werden. Man pflegt nun alle Bakterienarten, die in der Regel nur eine einzige Geißel ausbilden, als monotrich begeißelt zu bezeichnen. Solche monotrich begeißelten Bakterienarten findet man sowohl bei den Kugel- als auch bei den Stäbchen- und Schraubenbakterien. In der Figur 16 sehen wir in 1 und 2 monotrich begeißelte Kugelbakterien abgebildet; 1 entspricht einer Nitrosomonas (Nitritkugelbakterie) aus javanischer Erde mit kolossal lang ausgebildeter Geißel (nach Winogradsky) und 2 dem Micrococcus grossus nach Ellis. In 4 sehen wir als Beispiel einer monotrich begeißelten Stäbchenbakterienart den Nitratbazillus aus Züricher Erde, ebenfalls nach Winogradsky. Hier sitzt die Geißel an einem Pole des eiförmig gestalteten Bakteriums. In 11 dieser Figur endlich ist als Beispiel für ein monotrich begeißeltes Spirillum der Vibrio der asiatischen Cholera abgebildet, der in der Regel nur eine Geißel an einem Zellende trägt.

Wenn Bakterienarten mehrere Geißeln besitzen, dann sind bezüglich der Verteilung derselben über den Zelleib zwei Fälle zu beobachten. Entweder gehen sämtliche Geißeln von einem Punkte der Zelle aus oder die Geißeln sind über den ganzen Körper mehr oder

minder gleichmäßig verteilt. Im ersteren Falle, der nur bei Stäbchen- und Schraubenbakterien zur Beobachtung gelangt, spricht man von büscheliger oder lophotricher Begeißelung, in letzterem von peritricher Begeißelung.

Manche lophotrich begeißelten Bakterienarten besitzen Büschel von nur wenigen Einzelgeißeln, wieder andere dagegen von sehr vielen. Das Geißelbüschel sitzt in der Regel an einem Zellpole, also terminal. Eine Ausnahme davon finden wir bei einer gekrümmten Bakterie, die sich fast immer im Zahnbelag des Menschen findet. Sie ist mit ihrem Geißelbüschel, das in der Konkavität des Zellkörpers zu entspringen scheint, in 14 der Figur 16 abgebildet. Häufig findet man bei monotrich und lophotrich begeißelten Stäbchen- und Schraubenbakterien die Bezeichnung amphitrich, worunter eine Begeißelung an beiden Polen der Zelle gemeint ist. Die junge und ältere ruhende Zelle trägt, sofern sie überhaupt lophotrich begeißelt ist, immer nur das Büschel an einem Pole. Erst während der Teilung wird am zweiten Pole ein zweites Geißelbüschel ausgebildet, so daß in jüngeren Teilungsstadien eine beidpolige Begeißelung vorgetäuscht wird.

Außer der bereits erwähnten Abbildung 14 der Figur 16 zeigen uns noch 5, 6, 12 und 13 lophotrich begeißelte Stäbchen- und Schraubenbakterien. 5 entspricht der Pseudomonas cerevisiae mit einem aus vielen zarten Fäden bestehenden Geißelbüschel, 6 der Pseudomonas dermatogenes mit nur 3—4 endständigen Geißeln. 12 zeigt oben eine Zelle von Spirillum volutans mit einem entfalteten Geißelbüschel von 19 Einzelfäden und unten mit nur einem dicken Geißelzopf, entstanden aus den früher genannten Einzelgeißeln. In 13 dieser Figur sehen wir eine Zelle des Vibrio fluorescens, einer Flußwasser bewohnenden Schraubenbakterienart, mit einem Büschel von vier Geißelfäden abgebildet. An den zu Zöpfen vereinten Einzelgeißeln erscheint das Ende oft aufgefasert. Diese Auffaserung trifft aber niemals den einzelnen Geißelfaden, der stets in seiner ganzen Länge gleichmäßig dick und ungeteilt ist. Das gilt ausnahmslos für alle Bakteriengeißeln.

Eine peritriche Begeißelung findet sich nur bei Kugel- und Stäbchenbakterien. Die Anzahl der um den Körper angeordneten Geißeln bei den einzelnen Bakterienarten ist sehr verschieden, aber für die Individuen einer Art innerhalb gewisser Grenzen konstant. In den Abbildungen 3 und 7 bis 10 der Figur 16 sind peritrich begeißelte Bakterien wiedergegeben. 3 entspricht der Sarcina aurescens, einer Kugelbakterie, die sechs lange Geißelfäden trägt (nach Ellis). In 7 ist der Bacillus coli, ein Darmbewohner, mit fünf Geißeln wiedergegeben. 8 zeigt uns links eine einzelne Zelle und rechts einen Zellfaden von Bacillus subtilis, dem weitverbreiteten Heubazillus. Er besitzt schon mehr Geißeln als die vorgenannte Art. Gewöhnlich noch mehr Geißeln weist der Erreger des Unterleibstyphus, der Bacillus typhi, auf, der hier mit 14 Geißeln abgebildet ist. Eine noch viel größere Zahl von Geißeln weist der Starrkrampferreger, Bacillus tetani, auf, den uns 1) vorführt. Die einzelnen sehr feinen und langen Geißeln, die in riesiger Menge vorhanden sind, zeigen die Neigung zu Zopfbildungen.

Solange man nur auf die Untersuchung der Geißeln im gefärbten Zustande an der toten Zelle angewiesen war, konnte man sich allerdings von der Zahl und Verteilung der Geißeln eine Vorstellung machen, nicht

aber vom feineren Bau und dem Zusammenhang derselben mit dem Zellinneren. Erst durch die Anwendung der Beobachtung im Dunkelfelde, wo diese feinen Gebilde selbstleuchtend werden, ist es möglich geworden, auch in die letztgenannten Verhältnisse einen Einblick zu gewinnen. Nur so können wir die Form der lebenden Geißel in der Bewegung studieren, denn die zur besseren Darstellung der Geißeln angewendeten Elektrolytlösungen sind so verdünnt, daß sie die Zelle nicht mehr schädigen.

Unter diesen Kautelen untersucht, zeigt es sich, daß die Form der Geißeln nach dem jeweiligen Bewegungszustand verschieden ist. Während der Bewegung legen sich die Einzelgeißeln zu einem Geißelzopf zusammen, den wir kurzweg primären Geißelzopf nennen wollen. Derselbe weist eine bestimmte Krümmung auf, die natürlich auch den Einzelgeißeln zukommt. Dieselben sind im primären Geißelzopf auch keineswegs verflochten, sondern nur aneinander gelagert. Beim Aufhören der Bewegung entfaltet sich der Geißelzopf in der Regel, und die Geißeln nehmen die „Ruheform" an. Diese Formenveränderungen beweisen zugleich eine gewisse Weichheit und Schmiegsamkeit der Geißelfäden. Beim plötzlichen Abtöten der Zellen erhält man meist die „Bewegungsform", da zur Entfaltung keine Zeit ist. Bei der langsamen Einwirkung verdünnter Morphiumlösungen oder Jodjodkaliumlösungen findet eine Streckung der Geißeln statt.

In der vollen Bewegung weisen alle Geißeln Schraubenformen auf, die rechtsgewunden sind. Bei den einzelnen Arten besitzen die Windungshöhen und -durchmesser verschiedene Größe. Aus der Gestalt der in Bewegung befindlichen Geißelzöpfe kann man auf diejenige der Einzelgeißeln schließen. Beim Absterben werden die Schraubenwindungen gewöhnlich flacher oder die Geißeln strecken sich vollends. Bei der Bewegungseinstellung kann man entweder ein Flachwerden oder mitunter auch ein Steilerwerden der Geißelwindungen beobachten.

Eine feinere Struktur des Geißelapparates ist bei den kleinen Bakterien nicht nachweisbar. Werden die Bakterien in sauren Salzlösungen oder sehr verdünnten Säuren aufgeschwemmt, so sieht man längs des Geißelfadens Körnchen auftreten, während die Geißel kürzer wird. Man kann die Erscheinung mit einem Zusammenschmelzen der Geißelsubstanz vergleichen.

Bei den Geißeln der großen Spirillen gelingt es aber, den Zusammenhang der Geißel und des Geißelzopfes mit dem Zellinneren zu beobachten. Ein ausgezeichnetes Objekt für solche Untersuchungen ist das Spirillum volutans. Hier kann man schon nach einer einfachen Jodbehandlung in vielen Fällen sehr deutlich einen Verbindungsfaden zwischen den außen befindlichen Geißeln und dem Zellinneren unmittelbar wahrnehmen, wie es schematisch in der Figur 17 abgebildet ist. Innen mündet dieser Faden in ein kleines Knöpfchen, das aus chromatischer Substanz zu bestehen scheint, soweit man es aus färberischen Erscheinungen schließen kann. Wir haben aller Wahrscheinlichkeit nach hier eine ähnliche Bildung vor uns, wie sie andere zilientragende Zellen als Bewegungszentrum aufweisen und die man als Blepharoplast bezeichnet.

Wenn diese Beobachtungen an Spirillum volutans auch nicht ohne weiteres auf alle geißeltragenden Bakterien verallgemeinert werden

dürfen, so ist es doch sehr wahrscheinlich, daß der Geißelapparat bei den übrigen Bakterienarten im wesentlichen ähnlich oder gleich ausgebildet ist.

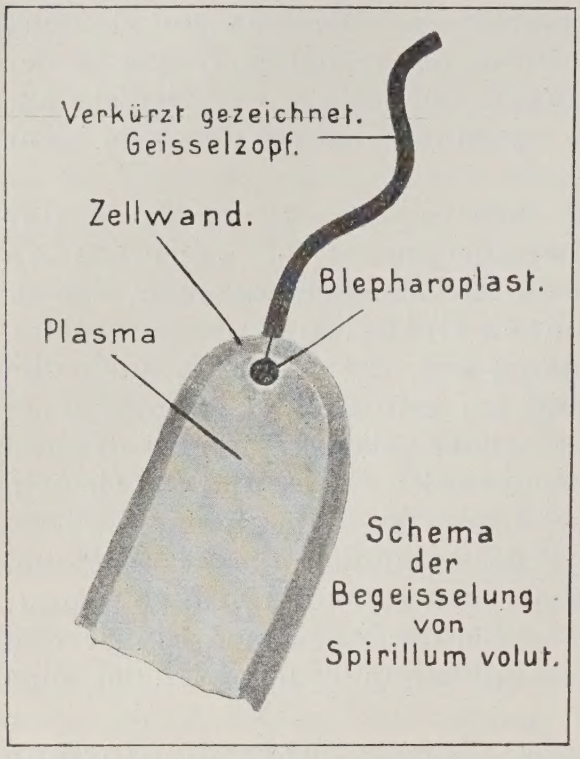


Fig. 17.

Schon lange ist die Erscheinung bekannt, daß besonders in älteren, aber mitunter auch in ganz jungen Kulturen sich neben den geißeltragenden Bakterien freie Geißelzöpfe vorfinden, die ganz ungeheuerliche Ausdehnungen annehmen. In Figur 18 ist ein solcher Geißelzopf bei 1000facher Vergrößerung photographiert. Wir kennen heute noch nicht genügend die näheren Bedingungen, die ein Abreißen und Zusammentreten der Geißeln zu solchen „sekundären Geißelzöpfen" veranlassen. Offenbar müssen äußere Ursachen die Oberfläche der Geißelfäden derart beeinflussen, daß sie eine mehr klebrige Beschaffenheit annimmt. Dadurch bleiben die Geißeln der vielen sich beim Herumschwärmen in der Flüssigkeit berührenden Bakterien aneinander haften und werden durch die weiteren Bewegungen der Bakterien miteinander verflochten. Schließlich reißen die im Zopf verfangenen Geißeln von der Zelle ab, und diese schwimmt mit ihren restlichen Geißeln weiter. Man sieht häufig an solchen Zöpfen gefangene Zellen, wie es in Figur 19 an Spirillum volutans wiedergegeben ist. Der Kultur war etwas Morphium zugesetzt worden, welches die Zopfbildung stark anregt.

c) Ergastische Gebilde.

1. Die Zellhaut.

Der Protoplast samt seinen Einschlüssen ist von einer Zellhaut oder Membran allseits umgeben, ohne daß es zu einem festeren Zusammenhang zwischen der Innenseite der Membran und der Zytoplasmaoberfläche kommt. Die Zellhaut dient dem Protoplasten einerseits als formgebendes Stützgerüst und scheint andererseits bei der Nahrungsaufnahme und auch beim Gasaustausch der Zelle mitzuwirken.

Im allgemeinen ist die Zellhaut junger, eben geteilter Bakterien sehr dünn, die älterer Individuen etwas dicker. Man kann ihre Dicke ungefähr mit einem Fünfzigstel des Zellendurchmessers einschätzen. Wenn man von den immer etwas verquollenen peripheren Partien absieht, zeigt die Bakterienzellwand keine Schichtung. An ihr sind auch keine feineren Strukturen zu bemerken. Bei besonders großen Bakterienarten fällt die Membran ohne besondere Präparation schon im lebenden Zustande durch ihr großes Lichtbrechungsvermögen auf. Besonders gut ist sie im Dunkelfelde selbst bei kleinen Bakterien als feine weiße Linie zu erkennen. Man kann sie auch dadurch darstellen, daß

man den Zellinhalt durch Essigsäure, 5—10proz. Salpetersäure oder Jodjodkaliumlösungen stärkerer Konzentration zur Zusammenziehung oder Schrumpfung bringt. Auch in alten Kulturen kann man an abgestorbenen Zellen nach spontaner Selbstverdauung des Zellkörpers um die leeren Zellen die Haut mit großer Deutlichkeit sehen. Das gleiche gilt für Fälle, in denen der Protoplast infolge äußerer Einflüsse seine Hülle vollständig oder teilweise verläßt. In der Figur 20 sind einige Zellhautbilder zusammengestellt, wie sie beim Spirillum volutans zur Beobachtung gelangen. In *A* sind sechs Zellen dieses Spirillums zusammengestellt, die mit starker Essigsäure und nachher zur Sichtbarmachung des geschrumpften Protoplasten (*a*) mit Jodjodkalium behandelt worden waren. Überall sieht man die feine Zellhaut (*b*),

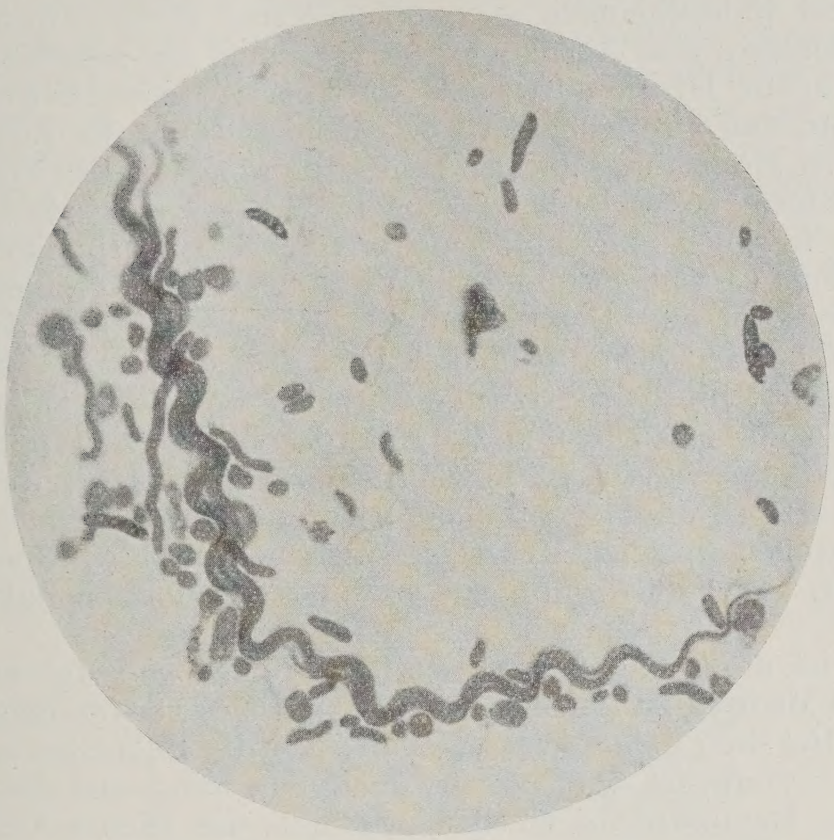


Fig. 18.

Fig. 19.

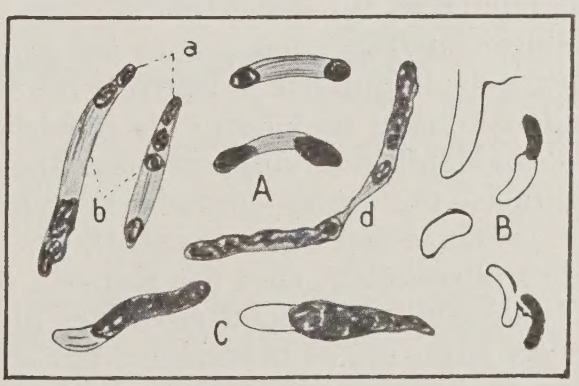


Fig. 20.

die bei *d* wie zusammengefallen erscheint. Sie liegt überhaupt selten glatt, wie ausgespannt, sondern weist kleinste Längsfalten auf, wie es durch die Längslinien angedeutet ist, die aber in der Zeichnung verhältnismäßig zu grob ausgefallen sind. In *B* sehen wir optische Schnitte leerer Zellhäute, aus denen der Protoplast bereits ausgetreten ist. *C*

gibt uns endlich eine Zelle wieder, in der der Plasmakörper gerade auszutreten beginnt.

Bei den Kugel- und Stäbchenbakterien haben die normalen vegetativen Wuchsformen eine allseits gleich dicke Zellhaut. Die großen Spirillen und wahrscheinlich auch die kleinen Schraubenbakterien machen insofern eine Ausnahme, als bei ihnen die Membran nicht allseitig dieselbe Dicke aufweist. Am Spirillum volutans kann man beobachten, daß die Zellhaut in den Konkavitäten der Zelle etwa doppelt so dick ist als in ihren übrigen Teilen. Es scheint dieses Verhalten die Schraubenform zu erklären. Wenn man einen Kautschukschlauch nimmt, der in einer Spirallinie eine Wandverdickung aufweist, ihn an einem Ende verschließt und dann Wasser einpreßt, so nimmt er sofort die Schraubenform an. Der Innendruck der Zelle, der sehr beträchtlich ist, besorgt bei den Schraubenbakterien dasselbe. In der Tat beobachtet man gelegentlich an Spirillum volutans die Erscheinung, daß eine Zelle die Bewegung einstellt, und, zur Ruhe gekommen, sich völlig streckt, um alsbald mit einem Ruck in die Spirillenform zurückzukehren und weiterzuschwimmen. Daraus geht auch hervor, daß die Zellhaut wenigstens bei den großen Spirillen sicherlich einen bedeutenden Grad von Elastizität besitzt. Dies dürfte übrigens auch bei den übrigen Bakterien der Fall sein.

Nach innen zu ist die Zellhaut stets scharf begrenzt, während sie gegen das umgebende Medium zu immer mehr oder weniger verwaschene Konturen aufweist. Bei dem hohen Wassergehalt, den die Bakterien in allen Nährsubstraten fordern, ist es nicht verwunderlich, wenn eine Aufquellung der äußeren Membranteile eintritt, wodurch die leichte Unschärfe der äußeren Zellbegrenzung bei der Betrachtung im lebenden Zustande ihre Erklärung findet. Dafür ein besonderes Außenplasma oder Ektoplasma verantwortlich zu machen, wie ein solches zahlreiche Forscher annehmen, ist völlig überflüssig.

Wenn es zu einer stärkeren Verquellung und Verschleimung der äußeren Membranpartien kommt, können die Zellen nach der Teilung miteinander in Verbindung bleiben. Auf diese Art entstehen die später zu behandelnden Wuchsverbandformen.

Zahlreiche Bakterien zeigen die Eigentümlichkeit, unter besonderen Ernährungsbedingungen sehr dicke Zellwände auszubilden, die stark verquellen können und dann als mächtige Gallerte die Zellen umgeben.

Solche Membranbildungen bezeichnet man allgemein als Kapseln. Sie werden meist nur unter besonderen Ernährungsbedingungen ausgebildet, die für die einzelnen Arten wesentlich verschieden sind. Gegen das umgebende Nährsubstrat sind die Kapseln meist ziemlich scharf abgegrenzt. Diese Gallerthüllen können entweder gleichmäßig nach allen Seiten um die Zelle herum abgeschieden werden oder vorwiegend nach einer Richtung, wodurch eigenartige Bildungen zustande kommen. Die Figur 21 zeigt eine Reihe solcher. In 1 sieht man um die Zellen von Micrococcus tetragenus homogene Höfe, die in ziemlich regelmäßiger Weise die Bakterien allseits umschließen. Die punktierte Zwischenmasse entspricht den Niederschlägen des bei der Herstellung des Ausstrichpräparates aufgetrockneten und mitgefärbten Nährsubstrates. 2 der Figur 21 gibt ein Bild vom Streptococcus mesenterioides, auch Froschlaichbazillus genannt, einer Kugelbakterie, die beim Wachstum in zucker-

reichen flüssigen Nährböden kolossale Gallerthüllen ausbildet. Dieselben sind in der Zeichnung hellgrau angedeutet. Auch hier wird die Kapsel gleichmäßig um die Zelle herum ausgeschieden. 2 *a* zeigt dieselbe Bakterienart ohne Kapselbildung, wie sie sich bei der Zucht in zuckerfreien Nährsubstraten entwickelt. In 3 der Figur 21 gewahren wir eine Abbildung der von Famintzin untersuchten Newskia ramosa. Die kleinen kugeligen Bakterien bilden hauptsächlich nach einer Seite Gallerte, so daß ein ganzer Gallertstock entsteht, an dessen Astspitzen sozusagen die Bakterien sitzen. In 4 dieser Figur ist eine Kette von vier Anthraxbakterien (schwarz) mit ihren verhältnismäßig zarten Kapseln (grau) abgebildet, welche gleichmäßig um die Zellen herum ausgeschieden sind. Anders verhält sich die Kapsel des sog. Bacterium vermiforme, von dem ein Zellfaden in 5 der Figur 21 zur Darstellung gebracht ist. Diese Bakterienart, die sich im englischen Sommerbier „Ginggerbeer plant" findet, bildet in älteren Entwicklungszuständen die Gallertmassen in Form einseitig ansitzender, vielfach gelappter Anhängsel. Um die jüngeren Zellen herum ist die Kapsel gleichmäßig ausgebildet.

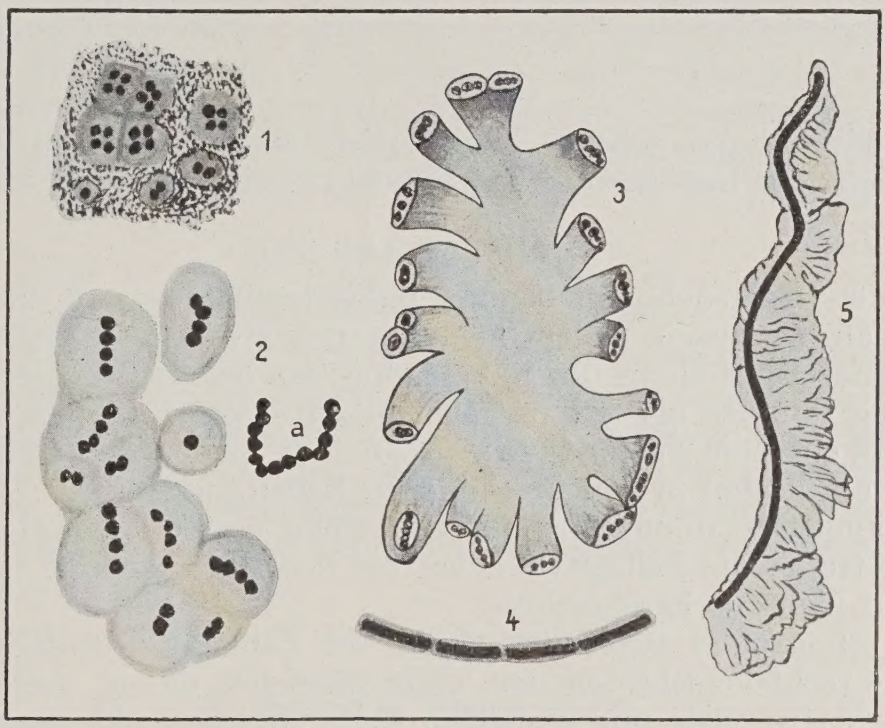


Fig. 21.

Im Anschluß an die eben besprochenen Gallertbildungen müssen die Scheiden der Fadenbakterien erwähnt werden. Es gibt Bakterien, die ständig in Fadenverbänden vegetieren, indem sie eine mehr oder minder dicke röhrenförmige Umhüllung aussondern, in der die weitere Vermehrung erfolgt. Diese Scheide erhärtet durch Einlagerungen aus der Umgebung meist derart, daß sie selbst nach dem Untergange der innewohnenden Zellen noch lange Zeit hindurch erhalten bleibt. Vielfach behalten die Scheiden aber auch ihre ursprüngliche weiche Beschaffenheit. Bei manchen Arten dieser Scheidenbakterien wird in den Hüllen Eisen in Form von Eisenoxydhydrat gespeichert, so daß diese Zellfäden eine braun-

rote Farbe annehmen. Diese eisenspeichernden Fadenbakterienarten vereinigt man in der physiologischen Gruppe der „Eisenbakterien".

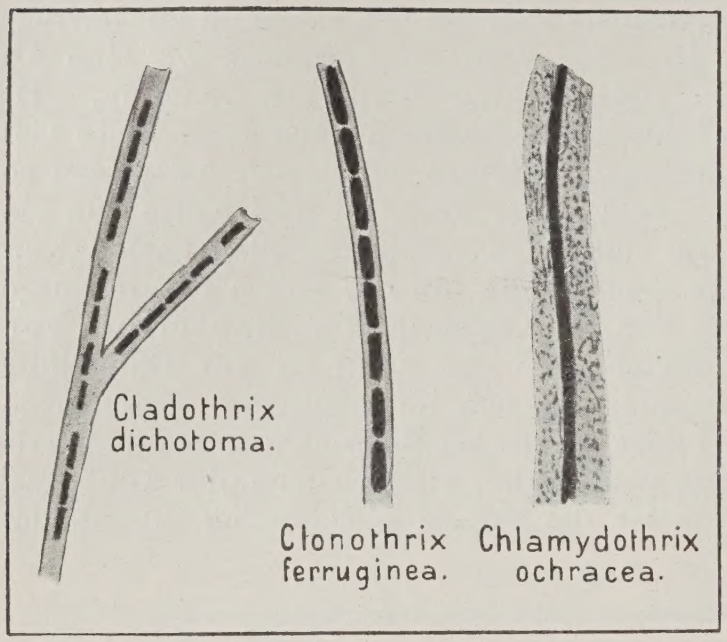


Fig. 22.

In Figur 22 sind von drei Eisenbakterien die Fäden nach Molisch wiedergegeben. Cladothrix dichotoma bildet meist eine dünne Scheide aus, die aber aus einer dichten, wasserarmen und mehr festen Gallerte besteht und den Zellfaden wie eine Röhre umschließt. Ähnliches sehen wir auch bei Clonothrix ferruginea und Chlamydothrix ochracea, die ebenfalls als Beispiele für scheidenbildende Fadenbakterien in Figur 21 wiedergegeben sind. Dort, wo die Zellwand die Scheide berührt, ist letztere weicher, so daß eine Verschiebung der Bakterien in den Scheiden leicht möglich ist.

2. Zellsaftvakuolen.

Bei der Untersuchung lebenden Bakterienmaterials in Wasser beobachtet man in vielen Zellen kleinere und größere rundliche Stellen, die bei tiefer Einstellung des Mikroskoptubus heller, dagegen bei hoher Einstellung dunkler als das umgebende Zytoplasma erscheinen. Diese Flecke sind eben die Zellsaftvakuolen. Wir finden sie in der Ein- und Mehrzahl am besten in den jugendlichen Zellen ausgebildet. Der Inhalt dieser Vakuolen ist dünnflüssig und homogen. Wegen dieser Homogenität desselben treten die Zellsaftvakuolen bei der Untersuchung im Dunkelfelde auch nicht in Erscheinung.

Wie schon oben angedeutet, kann die Zahl der Zellsaftvakuolen in einer Zelle recht verschieden sein, ganz abgesehen davon, daß die Menge der Vakuolen in einer und derselben Zelle entsprechend ihres Entwicklungszustandes schwankt. Die sog. „Wabenstruktur" des Protoplasmas, wie sie für zahlreiche Bakterien angegeben worden ist, scheint ihre Ursache vornehmlich darin zu haben, daß im Zytoplasma reichlich sehr kleine Zellsaftvakuolen zur Ausbildung gelangen.

Die Zellsaftvakuole wird vom Zellsaft erfüllt, der noch geformte Einschlüsse in Gestalt von kleinen Krümelchen und Körnchen enthalten kann, welche als Ausscheidungsprodukte zu betrachten sind. Der Zellsaft stellt eine mehr oder minder konzentrierte Lösung von organischen und anorganischen Salzen vor.

Die Wand der Zellsaftvakuolen wird von einer weichen, aus dem Zytoplasma differenzierten, homogenen Schicht gebildet, die einerseits semipermeabel ist und andererseits festen Exkretionsprodukten infolge ihrer elastisch-weichen Beschaffenheit einen leichten Durchtritt gestattet.

Übrigens ist die Frage nach der Natur der Zellsaftvakuolenwand oder des Tonoplasten, wie sie auch bezeichnet wird, noch keineswegs vollkommen sicher und eindeutig beantwortet.

Neben den Zellsaftvakuolen findet man im Bakterienprotoplasten noch meist besonders begrenzte Hohlräume zur Aufnahme von Reservestoffen, wie Fett, Glykogen, Volutin usw., über die gelegentlich der Besprechung dieser Stoffe Näheres mitgeteilt werden wird.

3. Airosomen.

Höchst eigenartige Inhaltskörper konnte Molisch in den Zellen der Purpurbakterien Rhodocapsa suspensa und Rhodotheke pendens nachweisen. Da sie mit der Schwebefähigkeit dieser Bakterien in Flüssigkeiten in ursächlichem Zusammenhange stehen, erhielten sie den Namen „Schwebekörperchen" oder „Airosomen". Man findet dieselben in den genannten Purpurbakterien sehr zahlreich der ganzen Länge der Zelle nach angeordnet, so daß der Protoplast wie zerklüftet oder gekammert aussieht. Die Airosomen sind stark lichtbrechend und erscheinen bei der Betrachtung im durchfallenden Licht in rötlicher Farbe, während sie sich bei der Beobachtung im auffallenden Licht weiß zeigen. Sobald auf die Zellen ein Druck ausgeübt wird, verschwinden sie, und zugleich verliert die Zelle die Fähigkeit, in der Flüssigkeit zu schweben. Man ist versucht, in diesen Gebilden Gasvakuolen zu erblicken. Die eingehende Untersuchung dieser Gebilde läßt diese Annahme jedoch nicht zu.

4. Organische Reservestoffe.

Von großer Bedeutung für den Haushalt der Zelle sind jene ergastischen Gebilde, welche von ihr im Plasma oder in besonderen Vakuolen aufgespeichert werden, um im Bedarfsfalle als Nahrung zu dienen. Diese meist geformten Verbindungen werden daher auch Reservestoffe genannt. Je nachdem sie Stickstoff enthalten oder nicht teilt man sie in stickstoffhaltige und stickstofffreie organische Reservestoffe ein.

H. N-haltige Reservestoffe.

In Hefen und Bakterien kennt man von N-haltigen Reservestoffen genauer nur das von A. Meyer und seinen Schülern eingehend untersuchte Volutin, welches im weitesten Sinne des Wortes auch als Reserveeiweiß bezeichnet werden kann und sicher eiweißartiger Natur ist. A. Meyer fand das Volutin zuerst in Form von größeren und kleineren Kugeln im Zellkörper von Spirillum volutans Kutscher und später noch in zahlreichen anderen Bakterien. Das Volutin ist farblos und stark lichtbrechend. Es zeigt in der Zelle eine zähflüssige oder breiige Beschaffenheit. Eigenartig ist sein Verhalten gegenüber einer Reihe von Reagenzien und Farben, woraus auf seine Eiweißnatur geschlossen werden darf. In der folgenden Zusammenstellung ist sein Verhalten gegen Reagenzien, wässerige Farbflotten und Jodjodkaliumlösungen wiedergegeben:

Wasser von 28° C	Lösung der Volutanskugeln in zwei Tagen.
„ „ 80—100° . . .	„ „ „ „ wenigen Minuten.
5proz. Schwefelsäure . . .	„ „ „ „ zehn Minuten.
Gesätt. wässr. Sodalösung .	„ „ „ „ wenigen Minuten.
Chloralhydrat (5 + 2 H_2O) .	in 5 Minuten keine Lösung.
10proz. Chlornatriumlösung .	„ 15 Minuten keine Lösung.
Eau de Javelle	„ 5 Minuten keine Lösung.
Alkohol	unlöslich.
Äther	„
Chloroform	„
Tetrachlorkohlenstoff . . .	„
1 Methylenblau + 10 Wasser	Zuerst Quellung der Volutanskugeln, dann intensive Blauschwarzfärbung. Nachträgliche Einwirkung 1% H_2SO_2 entfärbt nur das Zytoplasma, während die Kugeln dunkelblau bleiben.
Karbolfuchsinlösung	Zytoplasma und Volutin gleich rot gefärbt. Nachherige Behandlung mit 1% H_2SO_2 bewirkt Entfärbung des Plasmas. Die Kugeln bleiben rot gefärbt.
Methylviolett	Färbung der Volutanskugeln.
Bismarckbraun	Färbung der Kugeln.
Safranin	Färbung des Volutins.
Hämatoxylin (*Delafield*) . .	Langsame Färbung der Kugeln.
Eosin	Keine Färbung.
Boraxkarmin	Keine Färbung
Schwache Lösung von Jod in Jodkalium	Volutin und Plasma gleich hellgelb gefärbt.
Sehr konzentrierte Lösung von Jod in Jodkalium .	Volutanskugeln bei tiefer Einstellung im Mikroskop hellgelb, bei hoher dunkelgelb gefärbt.

Durch Härtungsmittel ändert sich die Löslichkeit in einigen Lösungsmitteln. So vermindert eine Behandlung mit Formaldehyd die Löslichkeit in Soda, mit Alkohol die in 80gradigem Wasser und Osmiumsäure die in Kalilauge.

Die Verdauungsenzyme Trypsin und Pepsin zeigen dem Volutin gegenüber dieselbe Wirkung wie Wasser.

I. N-freie Reservestoffe.

Die wichtigsten N-freien Reservestoffe sind: a) Fette und b) Kohlehydrate, welche sich entsprechend des Entwicklungszustandes und der Ernährung der Zelle ständig mehr oder minder reichlich in den Bakterien nachweisen lassen.

a) Bakterienfett.

Dasselbe findet sich in den Zellen in Form kleinerer oder größerer Tröpfchen, die außerordentlich lichtbrechend sind und bei Färbung mit schwach wirkenden wasserlöslichen Tinktionsmitteln vollständig farblos bleiben oder höchstens nur sehr wenig Farbe aufnehmen. In der Regel findet man in jugendlichen Oidien sehr kleine Tröpfchen in großer Zahl, während ältere Zellen und vor allem Sporangien, nur wenige dafür aber große Fettropfen enthalten. Die einzelnen Fettröpfchen sind kugelig und unmittelbar von Zytoplasma umgeben.

Als Lösungsmittel für Bakterienfett in der frischen Zelle können Eisessig und Chloralhydrat gut verwendet werden, während Javellesche Lauge nur wenig und langsam lösend wirkt. Auch Alkohol, Chloroform, Benzol usw. vermögen nur sehr schwer das in den Zellen befindliche Fett herauszulösen, weil dem Eindringen dieser Verbindungen

von Seite der Zellwand und der Schleimhüllen derselben ein beträchtlicher Widerstand entgegengesetzt wird. Osmiumsäure färbt Bakterienfette nicht, wohl aber Jodjodkaliumlösung rasch intensiv braun.

Als besondere Farbstoffe zum Nachweis des Bakterienfettes dienen vornehmlich Dimethylamidoazobenzol (Gelblösung) und Amidoazobenzolazo-β-Naphtol (Sudan III) in alkoholischer Lösung, der frischen oder in Formol fixierten wässerigen Bakterienaufschwemmung zugesetzt.

b) Kohlehydrate.

Im allgemeinen zeigen Pilze reichlich Kohlehydrate. Auch in den Bakterien lassen sich verschiedene Kohlehydrate entsprechend dem Entwicklungszustande in mehr oder minder großer Menge nachweisen. Am bekanntesten von den bei Bakterien nachgewiesenen Kohlehydraten ist das Glykogen und das Jogen.

1. Glykogen.

Das Bakterienglykogen wird im Zytoplasma in Form stark lichtbrechender Kugeln und Schollen abgelegt, die meist eine zähflüssige Beschaffenheit aufweisen. Mitunter findet man es auch in weicher, fast flüssiger Konsistenz. Man findet das Glykogen in den jugendlichen Zellen in geringer Menge oder es fehlt in solchen vollständig. Bei den meisten Glykogenabscheidungen kann man beim genaueren Zusehen beobachten, daß diese ganzen Schollen und Kugeln durchaus nicht einheitlich gefügt sind, sondern aus einer sehr großen Zahl dicht gelagerter kleinster Körnchen bestehen. Das Glykogen färbt sich mit konzentrierten Jodlösungen dunkelbraun bis braunrot. Es läßt sich durch kurzes Kochen in einer sehr verdünnten Schwefelsäurelösung leicht aus dem Zytoplasma herauslösen. Auch durch Behandeln der Glykogen führenden Bakterienzellen mit einem Malzauszug oder mit Speichel kann man dasselbe entfernen. Anilinfarblösungen färben das Glykogen nicht an, so daß in solchen Präparaten das Glykogen hell gegenüber dem gefärbten Zytoplasma erscheint.

2. Jogen.

Das Jogen scheint dem Glykogen sehr nachzustehen, denn es unterscheidet sich von ihm eigentlich nur durch sein Verhalten gegenüber einer sehr verdünnten Jodlösung, durch welche es blau gefärbt wird, während das Glykogen überhaupt noch nicht tingiert wird. Es findet sich sehr häufig mit dem Glykogen vergesellschaftet, aber bei manchen Bakterienspezies, wie beispielsweise im Spirillum amyliferum van Tieghem, auch allein. Das als Granulose vielfach beschriebene Reservekohlehydrat dürfte ein Gemisch von Glykogen und Jogen sein. Auch das von Hinze als Reservestoff bei Beggiatoa mirabilis beschriebene Amylin dürfte nichts anderes als Jogen sein.

3. Anorganische Einschlüsse.

a) Schwefeleinschlüsse.

Dieselben erscheinen als sehr stark lichtbrechende Kügelchen oder Tröpfchen, deren Durchmesser zwischen Bruchteilen eines Mikrons und mehreren Mikren schwankt. Sie finden sich in den Zellen der sog. Schwefel-

bakterien und einiger Purpurbakterien in wechselnder Menge und treten nur dann auf, wenn den betreffenden Zellen im Nährboden Schwefelwasserstoff zur Verfügung steht. Die Kügelchen sind doppelbrechend und bestehen aus einer eigenartigen Schwefelmodifikation, die nicht kristallisiert und eine weiche, teigige Beschaffenheit aufweist. In den bei 70° getöteten Zellen fließen die Schwefeltropfen zusammen.

Der in den Bakterien abgelagerte Schwefel ist in absolutem Alkohol und Schwefelkohlenstoff bei gewöhnlicher Temperatur leicht löslich, in Kalilauge und schwefligsaurem Natron nur in der Wärme. In toten Zellen kristallisiert der Schwefel in Form von großen monoklinen Prismen.

b) Kalziumkarbonat.

Nach den Untersuchungen von Bersa enthalten die Schwefelbakterien Achromatium oxaliferum Schewiakoff und Microspira vacillans Gicklhorn neben kleinen Schwefelkügelchen große, mehr unregelmäßig eckig gestaltete Inhaltskörper, welche aus amorphem Kalziumkarbonat bestehen. Auch Pseudomonas hyalina Gicklhorn, eine nur bei Anwesenheit von Schwefelwasserstoff vegetierende Bakterienart, die aber keinen Schwefel in den Zellen ablagert, enthält nur aus kohlensaurem Kalk bestehende körnige Einschlüsse im Zytoplasma, deren Menge bis zu 90% der Zelle beträgt.

4. Farbstoffe.

Nur wenige Bakterienarten halten den von ihnen im Zytoplasma gebildeten Farbstoff in der Zelle zurück. Er wird vielmehr meist als Leukoverbindung nach außen in in Wasser löslicher oder unlöslicher Form abgegeben und ist in diesen Fällen wohl höchstwahrscheinlich nur als für die Zelle nicht mehr belangreicher Exkretstoff oder Abfall zu betrachten. Neben dem Bacillus violaceus halten nur die Purpurbakterien den Farbstoff im Zytoplasma gelöst und farbig zurück.

Morphologisch läßt sich in diesen intrazellulären Farbstoffausscheidungen nichts nachweisen. Über die Chemie und Physiologie der Bakterienfarbstoffe soll an späterer Stelle Genaueres mitgeteilt werden.

5. Anhang.

Metachromatische Körnchen.

Die Literatur über den feineren Bau der Bakterien- und Hefezelle enthält eine große Menge von Angaben über Körnchen im Zytoplasma, die sich bei der Behandlung mit Methylenblaulösungen different färben (rot, violett, bzw. blau). Man findet sie meist wegen dieser eigenartigen färberischen Erscheinung als metachromatische Körnchen bezeichnet. Es dürfte sich dabei aller Wahrscheinlichkeit nach um Gebilde handeln, die einerseits als Zellabfallstoffe oder Exkrete anzusehen und andererseits vielleicht zum größten Teil in die Gruppe der Reservestoffe einzureihen sind. Eine scharfe Trennung dieser Gebilde in verschiedene physiologisch oder morphologisch definierte Gruppen ist bisher nicht möglich. Es wäre viel besser, diese Bezeichnung der verschiedenen Granula gänzlich fallen zu lassen.

2. Vermehrung der Bakterien.

Die Vermehrung der Bakterien erfolgt einerseits durch Querteilung oder Spaltung der vegetativen Zellen (Oidien), andererseits durch Ausbildung von Dauerformen (sporenähnliche Gebilde und echte Sporen).

A. Teilung der Bakterien.

Im allgemeinen erfolgt die Teilung der vegetativen Bakterienzelle durch Spaltung, wobei eine Querwand eingefügt wird. Diesem Verhalten entsprechend bezeichnet man die Bakterien auch als Spaltpilze oder Schizomyzeten. Bei den Stäbchen- und Schraubenbakterien steht die Teilungswand senkrecht zur Wachstumsrichtung oder Achse der Zelle.

In den meisten Fällen vollzieht sich die Teilung nach Eintritt einer bestimmten Formveränderung der Mutterzelle. Nur einige Kugelbakterien weichen bei ihrer Teilung insofern von diesem Modus ab, daß überhaupt keine Formveränderung vor der Spaltung eintritt oder höchstens eine geringe Vergrößerung und Längsstreckung der ganzen Zelle, so daß ovale Formen zustandekommen.

Der Verlauf der Teilung von Stäbchen- und Schraubenbakterien spielt sich im allgemeinen folgendermaßen ab: Die sich zur Spaltung anschickende Zelle verlängert sich durch gleichmäßiges Wachstum nach beiden Richtungen der Längsachse etwa um ein Drittel oder bis auf die Hälfte der Länge. Während dieser Längsstreckung haben sich ungefähr in der Zellmitte mehr wandständig, also exzentrisch, zwei kleine körnige Gebilde herausdifferenziert, die in unmittelbarer Beziehung zur Membranbildung stehen. Dieselben sind meist durch einen etwas gewunden verlaufenden feinen Faden verbunden. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich bei diesen Gebilden um Kernteile. Die Bildung der Querwand setzt nun peripher an der Zellwand ein und schreitet konzentrisch gegen die Zellachse vor. Später, sobald sich die beiden Teilungsprodukte voneinander trennen, tritt eine Spaltung der Querwand in zwei Blätter auf, die dann die eine terminale Begrenzung der beiden jungen Oidien bilden. Solange die Tochterzellen miteinander im Verband bleiben, scheint ein völliger Verschluß der neuen Querwand überhaupt nicht einzutreten. Es bleiben Plasmaverbindungen (Plasmodesmen) im Zellfaden bestehen.

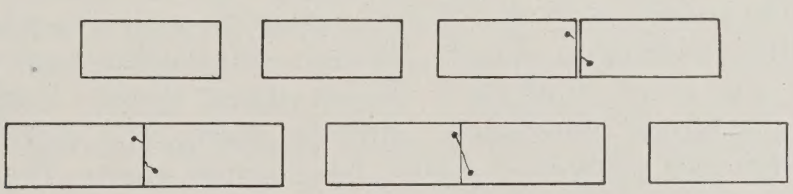


Fig. 23.

In der Figur 23 sind die einzelnen Stadien der Spaltung schematisch wiedergegeben, wie sie nach den verschiedenen Beobachtungen von Ružička, Guilliermond u. a. bei den Stäbchen- und Schraubenbakterien aufzutreten scheinen.

Unter sehr günstigen Ernährungsbedingungen treten die einzelnen Teilungen außerordentlich rasch nacheinander auf. Unter diesen Um-

ständen kommt es vor, daß die noch nicht einmal zur vollen Länge erwachsenen Tochterzellen bereits Querwände ausbilden.

Bei den Kugelbakterien geht die Teilungsebene immer durch den Mittelpunkt der Zelle. Im übrigen findet die Wandbildung nach dem oben beschriebenen Modus statt. Hier herrscht in bezug auf die Lage der Teilungsebene in den aufeinander folgenden Teilungen bei den verschiedenen Arten eine Gesetzmäßigkeit, durch die das Auftreten von ganz bestimmten Wuchsverbänden bedingt wird, sofern durch Verquellung der Zellwände die Teilungsprodukte aneinander längere Zeit haften bleiben. Diese Wuchsverbände sind als artcharakteristische Merkmale aufzufassen und werden auch bei der Aufstellung der Bakteriensysteme meist verwertet. Die nach der Teilung frei werdenden Tochterzellen nehmen alsbald die Kugelgestalt an und wachsen zur normalen Größe heran.

Da durch den Kugelmittelpunkt unzählig viele Ebenen gelegt werden können, so wird bei den Kugelbakterien die Möglichkeit vorhanden sein, daß sich die einzelnen Zellen nach Ebenen teilen, die eine beliebige Richtung im Raume besitzen. Wechseln diese Richtungen bei allen folgenden Teilungen und bleiben die Tochterzellen aneinander haften, so müssen unregelmäßige Wuchsverbände entstehen, die mit Trauben gut zu vergleichen sind. Man bezeichnet dementsprechend auch alle jene Kugelbakterien, die sich nach dem genannten Typus teilen, als Traubenkugelbakterien, Traubenkokken oder Staphylokokken.

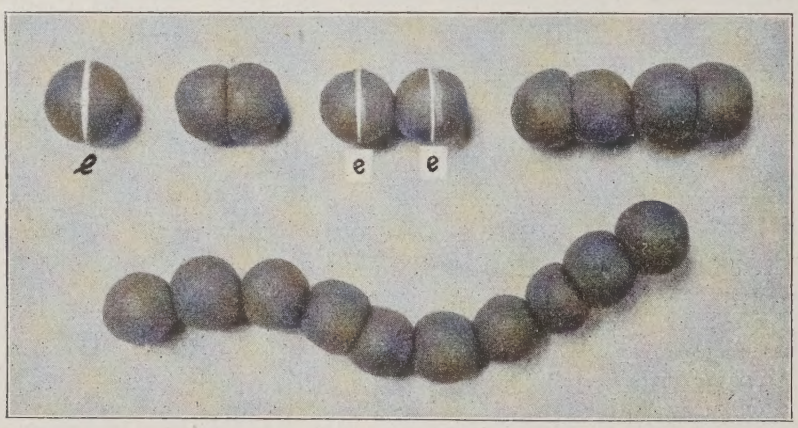


Fig. 24.

Wesentlich anders sind die Wuchsverbände geartet, wenn die Bakterien bei allen Teilungen durch Ebenen durchschnitten werden, die zueinander parallel stehen. Wenn dann durch Verklebung der Zellen Wuchsverbände entstehen, müssen diese eine reihenartige Anordnung der Glieder aufweisen; man bezeichnet solche Wuchsverbände als Kugelketten und alle Bakterien, die sich in diesem Sinne teilen, als Kettenkugelbakterien oder Streptokokken. In Figur 24 ist das Photogramm eines Modelles solcher Bakterien abgebildet. Wir sehen ganz links die einzelne Kugelbakterie, an der die mit *e* bezeichnete weiße Linie die Teilungsebene markiert. Nach der Teilung entstehen zwei Tochterzellen, an denen wieder durch die weißen Linien *e* die Teilungsebenen angedeutet sind, die zu derjenigen des ersten Kokkus parallel stehen. Nach der Teilung sind vier Zellen vorhanden. Dies wiederholt

sich ständig, wodurch eben kettenartige oder rosenkranzartige Verbände entstehen, wie wir einen in der Figur unten abgebildet erblicken.

Wenn sich nun Kugelbakterien abwechselnd nach zwei Richtungen des Raumes teilen, die aufeinander senkrecht stehen, so müssen Verbände entstehen, welche in einer Ebene liegen. Die Figur 25 illustriert, nach einem Modell photographiert, diesen Teilungstypus. Links liegt die Ausgangszelle, die sich entsprechend der weißen Linie teilt. Die dabei hervorgegangenen zwei Tochterzellen (in der Mitte der Figur) teilen sich nun in einer auf die erste Teilungsebene senkrecht stehenden Richtung, wie es wieder die beiden weißen Linien andeuten. Es müssen nach vollzogener zweiter Teilung vier Zellen in einer Ebene liegen. Bei weiteren Teilungen und Haftenbleiben der Tochterzellen entstehen tafelförmige Wuchsverbände, die auch Merismopedien genannt werden. Bei kleineren Wuchsverbänden dieser Art, wo nur vier Zellen aneinander haften bleiben, spricht man auch von Tetrakokken und Tetraden.

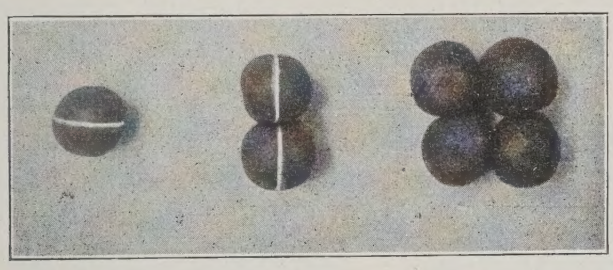


Fig. 25.

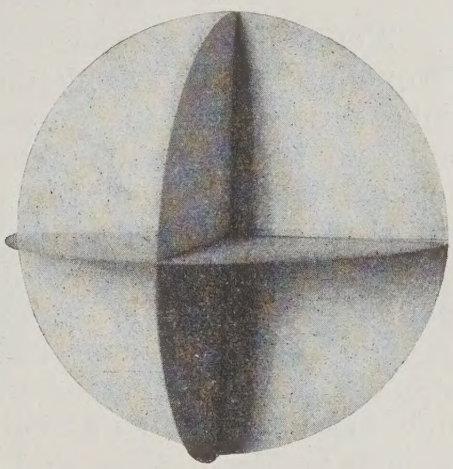


Fig. 26.

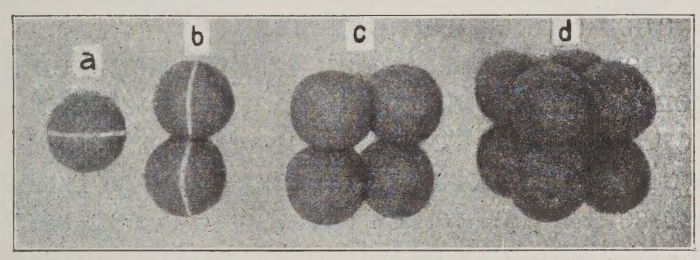


Fig. 27.

Noch anders sehen die Wuchsverbände aus, wenn die aufeinander folgenden Teilungen in drei aufeinander senkrechten Raumrichtungen stattfinden, wie es in Figur 26 das photographierte Modell erkennen läßt. In Figur 27 sehen wir die Entstehung eines Wuchsverbandes, wenn die Teilungen erfolgen. *A* entspricht nach diesem Typus der Mutterzelle, die sich im Sinne der weißen Linie teilt. Die beiden Tochterzellen *b* spalten sich dann senkrecht zur früheren Teilungsrichtung wieder entsprechend den beiden ersten Linien. Die beiden ersten Teilungen erfolgen also genau nach dem unmittelbar früher geschilderten Typus. Die Teilung der entstandenen vier Teilprodukte (*c*) geschieht nun in der auf den beiden ersten Richtungen senkrecht stehenden Ebene, die durch die Papierebene markiert ist. So entsteht ein Wuchsverband von warenballenartiger Form. Deshalb bezeichnet man die sich nach diesem vierten Typus teilenden Kugelbakterien auch als Sarcinen.

Bei allen Stäbchenbakterien, Schraubenbakterien und Scheidenbakterien findet die Teilung immer senkrecht zur Wachs-

tumsrichtung statt. Naturgemäß können daher nur Faden- und Kettenverbände entstehen, sofern die Teilungsprodukte nach der Spaltung durch Kapselbildungen oder Membranverquellungen im Zusammenhange verbleiben. Eine Längsteilung, parallel zur Wachstumsrichtung, konnte bisher nicht beobachtet werden.

Bei den Fadenbildungen kann man im allgemeinen keinen Unterschied beider Enden wahrnehmen, also Basis und Spitze nicht unterscheiden. Nur diejenigen Fadenbakterien, bzw. die Fäden solcher, lassen einen Unterschied zwischen Basis und Spitze erkennen, welche seßhaft sind. So setzt sich der Faden von Crenothrix polyspora an Steinen, Blättern u. dgl. im Wasser mit einem Ende fest, während der übrige Faden frei in der Flüssigkeit hängt. Die Zellen an der festsitzenden Basis sind schmäler als die der Spitze, weshalb der Faden an der Spitze häufig breiter ist als an der Basis.

B. Wuchsverbände der Bakterien.

Wenn die Bakterien sich in einer Flüssigkeit entwickeln und eine Verquellung und Verschleimung der äußeren Zellwand erfolgt, so werden große Wuchsverbände ausgebildet, die schon mit freiem Auge sichtbar sind und in denen die Zellen in einer gemeinsamen homogenen Masse eingebettet erscheinen. Mit Cohn bezeichnen wir derartige Bildungen als Zoogloeen. Hierher gehören auch die feinen Häute und Überzüge auf Flüssigkeiten, die sehr schön vom Heubazillus (Bacillus subtilis) ausgebildet werden. Sie sind schon mit freiem Auge als dünne, zarte irisierende Häute zu bemerken, die die ganze Wasseroberfläche in gleichmäßiger Schicht überziehen. Besonders gut sind solche Zoogloeen auch bei den Essigbakterien ausgebildet, wenn sie in Flüssigkeiten gezogen werden. Hier sind sie aber derber und dicker.

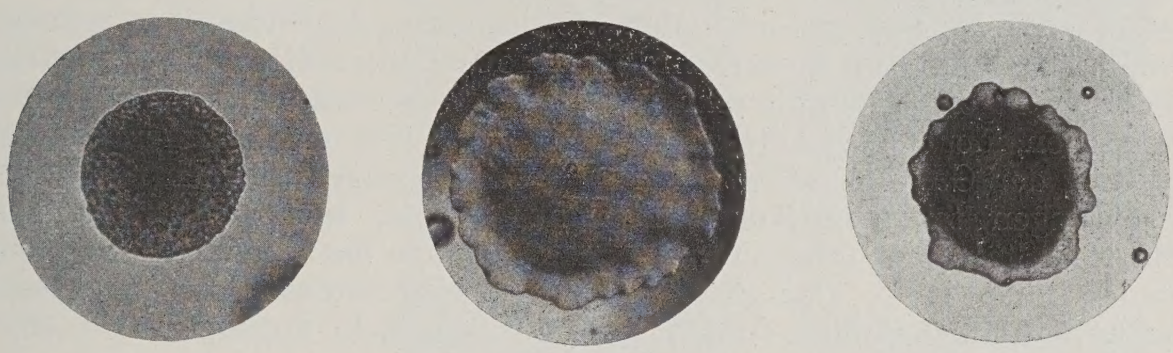
Der Ausbreitung der Bakterien in Flüssigkeiten stellen sich keine besonderen Hindernisse entgegen. Anders ist es aber, wenn sich Bakterien in der Tiefe oder an der Oberfläche von Gallerten vermehren. Hier können sich auch die beweglichen Bakterienarten nur wenig von der Stelle bewegen. Außerdem setzt selbst die weichste Gallerte schon sehr große Hindernisse entgegen. Die Zellen sind zur Bildung von Zusammenlagerungen gezwungen, sie müssen räumlich beieinander bleiben, wenn auch jede derselben in diesem Verbande ihre Selbständigkeit voll bewahrt. Auch beim Wachstum der Bakterien auf durchfeuchteten festen Körpern liegen die Verhältnisse ähnlich.

Wir bezeichnen Bakterienzusammenlagerungen in oder auf Gallerten und auf festen Nährsubstraten, sofern sie sich aus einer Zelle oder nur wenigen Individuen derselben Art entwickelt haben, ganz allgemein als Bakterienkolonien. Dieselben sind in jugendlichem Zustande winzig klein und werden dann „mikroskopische Kolonien" genannt, aus denen durch weiteres Wachstum die schon mit unbewaffnetem Auge gut wahrnehmbaren „Riesenkolonien" hervorgehen. In der Kolonie selbst sind die einzelnen Zellen gleichwertig und selbständig, einerlei, ob sie durch Ausbildung von Gallerthüllen und Schleim in einem innigeren Zusammenhang stehen oder ob sie einfach nur nebeneinander liegen.

Die Form dieser Kolonien ist außerordentlich verschieden und hängt von äußeren Bedingungen und inneren Ursachen ab,

die in der Zelle selbst liegen. Unter völligem Gleichbleiben aller äußeren Bedingungen kann die Kolonieform als konstant gelten und dann auch zur Unterscheidung der verschiedenen Arten bis zu einem gewissen Grade verwertet werden. Allerdings sind die Kolonieformen verschiedener Bakterienarten in vielen Fällen einander sehr ähnlich und außerdem ist die Einhaltung gleicher äußerer Umstände außerordentlich schwierig.

Wesentlich für die Kolonieform ist die Konsistenz, und bei oberflächlichen Kolonien, die physikalische Beschaffenheit der Oberfläche des Nährsubstrates. Wenn auch die Oberfläche einer Gelatine-, Agar- oder Kieselsäuregallerte glatt aussieht, so erweist sie sich bei genauer mikroskopischer Untersuchung als rauh und voll von Vorsprüngen und kleinen Fremdkörpern. Die Konsistenz wird bedingt sein vom Wassergehalt, der Temperatur und bei Gelatine und Agar noch überdies von der Reaktion. So bildet Vibrio aquatilis fluorescens, eine Schraubenbakterie, welche einen fluoreszierenden Farbstoff erzeugt, auf neutraler Nährgelatine mit 10% Gelatinegehalt innerhalb von 48 Stunden bei einer Temperatur von 20° C Kolonien von der Form, wie sie in *b* der Figur 28 abgebildet ist. Setzt man dem Nährboden Sodalösung zu,



a b c

Fig. 28.

bis er ziemlich stark alkalisch wird, sind trotz Einhaltung aller anderen Bedingungen die Kolonien ganz anders geformt und viel kleiner, wie es *a* der Figur 28 zeigt. Wieder anders ist das Bild, wenn die Nährgelatine sauer reagiert; dann erhalten wir eine andere Form der Oberflächenkolonien entsprechend *c* der Figur 28.

Weiter wird die Koloniebildung noch dadurch beeinflußt, daß während des Wachstums der Bakterien eine Veränderung des gallertigen Nährbodens auftritt, sofern es sich nicht um eine Gallerte handelt, die nur als Vehikel für eine Nährlösung dient, wie beispielsweise Kieselsäure. Die Kolonieform ist aber auch beeinflußt durch eine Reihe innerer Momente, von denen die Art und Geschwindigkeit der einzelnen Teilungen ausschlaggebend sind. Überdies produzieren sehr viele Bakterien Stoffe, die außerhalb der Zelle erweichend und lösend auf Gelatine und auch Agar wirken, die ja zum Studium der Kolonieformen meistens Verwendung finden. Diese Änderung der physikalischen Eigenschaften der genannten Gallerten üben ebenfalls einen großen Einfluß auf die Koloniebildung aus.

Wir wollen die Verhältnisse bei der Koloniebildung unter Zugrundelegung von Gelatine als Nährboden kurz erörtern, da sich die meisten Koloniebeschreibungen von Bakterien auf Kolonien beziehen, die eben

auf den verschiedenen Nährgelatinen zur Beobachtung und Untersuchung gelangten. Hutchinson hat zwar seine eingehenden Studien über den Bau und die Bildung der Kolonien von niederen Pilzen an Material angestellt, das auf oder in Agargallerten wuchs. Im Grunde genommen sind die Ergebnisse aber nicht wesentlich abweichend.

Je nachdem sich die Kolonie in der Tiefe oder auf der Oberfläche ausbildet, sprechen wir von einer tiefliegenden oder oberflächlichen Kolonie (auch Oberflächenkolonie).

Wenn in verflüssigter Gelatine Bakterien gleichmäßig verteilt werden und die Gelatine dann in dünner Schicht in einer Schale rasch zur Erstarrung gebracht wird, werden die einzelnen Bakterien dort in der Gallerte gefangen, wo sie sich eben vor der Erstarrung befunden haben. Auch die sehr gut eigenbeweglichen Arten können sich nicht nennenswert von der Stelle rühren, wenn nicht zu dünne Gallerten zur Anwendung kommen. Schon in einer Gallerte mit 4% Gelatine bei Zimmertemperatur ist eine spontane Ortsveränderung der eingesäten Zellen ausgeschlossen. Nun vermehren sich in der Gallerte die Bakterien. Die entstehenden Kolonien werden meist eine kugelige, wetzsteinartige oder scheibenförmige Gestalt aufweisen. Die größte Ausdehnung dieser Gebilde wird sich immer dort finden, wo der geringste Widerstand sich den bei der Teilung sich auseinanderschiebenden Zellen entgegenstellt. Bei denjenigen Arten, die sehr sauerstoffliebend sind, wird ein Bestreben herrschen, der Oberfläche zuzuwachsen, da hier eine stärkere Durchlüftung der Gallerte erfolgt. Im allgemeinen zeigen die sich nach allen Richtungen teilenden Kugelbakterien kugelige, tiefliegende Kolonien. Bei den Stäbchenbakterien findet man kugelige bis scheibenförmige Kolonien in der Tiefe. Das gleiche gilt für die Schraubenbakterien. Weiter kann man auch Gebilde finden, bei denen ein mehr kugeliger Kern zahlreiche feinste Ausläufer in die umgebende Gallerte entsendet. Für diese Erscheinung dürfte eine Erweichung des umgebenden Nährsubstrates die Ursache sein, hervorgebracht durch nach außen abgegebene leimlösende Stoffe (Enzyme). Da an jeder Gallerte an den verschiedenen Stellen sehr verschiedene Spannungen herrschen und auch Spaltrichtungen nachzuweisen sind, so erklären sich längliche, elliptische und dünne Koloniefomen durch die genannten physikalischen Eigenschaften am leichtesten und ungezwungensten.

Viel mannigfaltiger gestaltet ist die Form der oberflächlichen Kolonien. Dieselben entstehen entweder dadurch, daß eine Bakterienzelle auf der Oberfläche festgehalten wird und sich dort vermehrt oder aber dadurch, daß eine tiefliegende Kolonie bei ihrer Ausbreitung die Oberfläche erreicht. Jede oberflächliche Kolonie besitzt einen Kernpunkt, von wo aus die Entwicklung fortschreitet. Entweder ist sie von dort aus gleichmäßig nach allen Richtungen der Fläche oder aber ungleichmäßig. Dementsprechend ist der Umriß der Kolonie durch einen Kreis oder ein Oval im allgemeinen gegeben. Eine weitere Gliederung des Umfanges tritt dadurch ein, daß Ausläufer oder vorspringende Schleifen gebildet werden, wodurch die Kontur ein gebuchtetes oder wie mit Stacheln besetztes Aussehen bekommt. Treten größere Vorsprünge auf, so entstehen Formen, die in ihrem Aussehen an Blätter erinnern. Man bezeichnet solche Auflagerungen als gelappte Kolonien. Im Schnitt betrachtet, erweisen sich die Kolonien ebenfalls recht verschieden. Es gibt solche,

die sehr dünne und flache Auflagerungen vorstellen. Weiter findet man halbkugelig gebaute und endlich solche, die nachweislich aus mehreren immer breiteren Etagen aufgebaut sind. Diese Typen sind durch alle erdenklichen Übergänge verbunden. Die Oberfläche der Kolonien ist entweder vollständig glatt oder durch radiäre und konzentrische Adern zerrissen oder von zahllosen Schleifen und Windungen durchsetzt. Hier herrscht eine außerordentliche Mannigfaltigkeit der Erscheinungen, die zu beschreiben zu weit führen würde. In der Figur 29 ist eine Reihe von Oberflächenkolonien verschiedener Stäbchenbakterienarten nach im durchfallenden Licht aufgenommenen Mikrophotogrammen bei 25—30facher Vergrößerung wiedergegeben. Wir sehen in *A*, *B* und *D* annähernd kreisrunde Kolonien, von denen die in *A* abgebildete Auflagerung eine ziemlich spitze kegelförmige Erhöhung im Zentrum aufweist, während der Rand flach und dementsprechend durchsichtig ist. Wir sehen hier noch die feine, netzartige Struktur der Oberfläche und den leicht gekerbten Rand. *B* zeigt eine etwas größer gebuchtete Kolonie, die überall annähernd gleiche Dicke besitzt und kein Zentrum er-

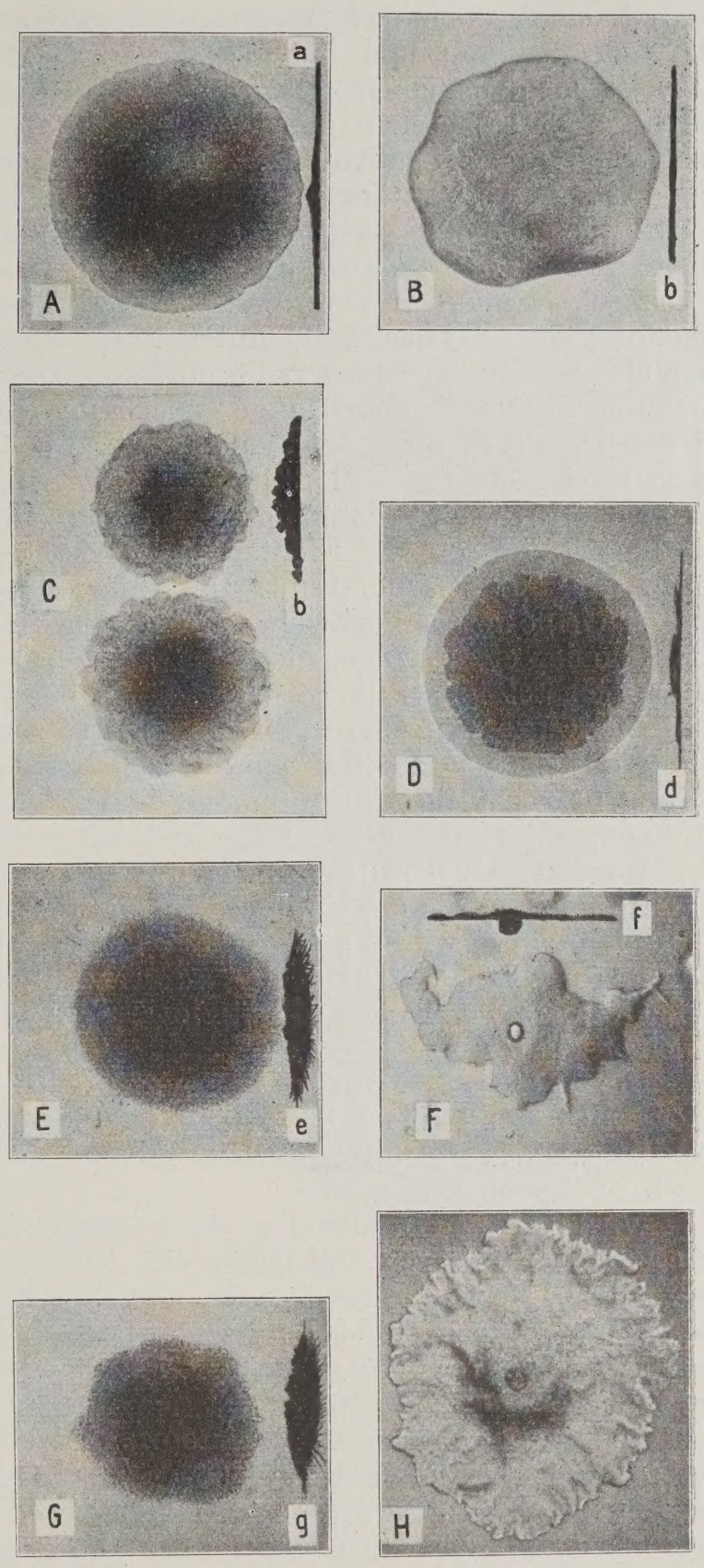


Fig. 29.

kennen läßt. Die Oberfläche hat eine fädige Zeichnung, die durch wellig verlaufende, sehr niedrige Falten und Wülste zustandekommt. *D* hat einen etagenartigen, rein konzentrischen Bau mit stark verdicktem Zentrum und äußerst zartem Rand mit radiärer Streifung. *C* weist ebenfalls einen kreisförmigen Bau auf, hat eine sehr verdickte Mitte und setzt sich aus sehr regelmäßig gestalteten Brocken zusammen. Auch *H* läßt die radiäre Anordnung gut erkennen. Die Kolonie ist aber sehr stark gebuchtet und die Oberfläche mit zahlreichen mehr unregelmäßig verlaufenden Falten und Wülsten versehen. Die Mitte ist auch hier kuppenförmig erhoben. Das Zentrum tritt als dunkler Kreis scharf hervor. Dort liegt die tiefliegende Kolonie, die nach Erreichung der Oberfläche die Auflagerung verursachte. *E* und *G* zeigen uns ebenfalls einen streng radiären Bau. Die Mitte beider Kolonien ist mächtig verdickt. Vom Rande gehen sehr feine, radiär gestellte Fäserchen aus, die in die umgebende Gelatine eindringen. Hier haben wir eben zwei Kolonien von Stäbchenbakterienarten, die die Gelatine erweichen und später vollständig verflüssigen. Deshalb kommt es zu diesem strahligen Vordringen. *F* entspricht einer Oberflächenkolonie, die Ausläufer über die Gelatine treibt. Die Auflagerung zeigt an ihrer Oberfläche nur eine feine netzartige Zeichnung und Körnelung. Im Querschnitt sehen die Kolonien etwa so aus, wie es die mit den kleinen Buchstaben bezeichneten beigesetzten Schnittzeichnungen *a* bis *f* dartun.

Die Kugelbakterien bilden meistens Auflagerungen, die keine besondere Struktur oder Zeichnung erkennen lassen und meist streng kreisförmig begrenzt sind. Gewöhnlich sind solche Kolonien sehr dick und erhaben, mit Halbkugeln zu vergleichen.

Im durchfallenden Licht bei schwacher Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Kolonien der Bakterien milchweiß bis bräunlichgelb bis undurchsichtig schwarz, je nach der Dicke und Mächtigkeit der Auflagerung. Im auffallenden Licht gesehen, sind die Kolonien weiß, außer die sie erzeugenden Bakterienarten bilden Farbstoffe. Dann erscheinen sie entsprechend gefärbt.

Die Oberfläche der Auflagerungen ist entweder glänzend, feucht oder wachsartig, fettig oder ganz matt, entsprechend der Schleimbildung, dem Feuchtigkeitsgrad und der Oberflächenbeschaffenheit derselben.

Wird zur Zucht und Anlage der Kolonien Agar verwendet, dann sind alle Kolonien feuchter und haben eine größere Neigung zur Flächenausbreitung. Der Grund liegt darin, daß die Oberfläche mit einer äußerst zarten und dünnen Flüssigkeitsschicht bedeckt ist, die naturgemäß für die rasche Ausbreitung sehr förderlich ist. Zum Studium des Baues sehr jugendlicher Kolonieformen eignet sich diese Gallerte auch ausgezeichnet, wie die Untersuchungen Hutchinsons über die Koloniebildung niederer Pilze ergaben. Wir verdanken dem genannten Forscher unter anderem eine Reihe wertvoller Aufschlüsse über die Koloniebildung aus wenigen Zellen von fadenbildenden Bakterien und Kokken. Infolge des Wachstums und der Vermehrung der Zellen werden die Teilungsprodukte mechanisch immer weiter geschoben und durch entgegenstehende Hindernisse in der Richtung abgelenkt, womit die so oft auftretenden Schleifen und Schlingenbildungen zu erklären sind. Besonders trifft dies für alle Bakterien zu, bei denen die Teilungsprodukte längere

Zeit untereinander verbunden bleiben. Schwer zu erklären ist die Entstehung der Kolonieform von Spiriillum adriaticum, einer Meerwasserschraubenbakterie. In den jungen, mikroskopischen Kolonien sieht man die einzelnen Spirillen unverbunden in der Weise liegen, wie es *a* und *b* der Figur 30 zeigt. Hier wurde einfach die sehr junge Kolonie durch Auflegen eines Deckgläschens abgeklatscht und die am Deckglas in ihrer ursprünglichen Lage festgeklebten Zellen gefärbt und photographiert. Aber auch hier dürfte ein spiraliges Weitergleiten der Teilprodukte die Ursache der runden und ovalen Kolonieform sein.

Viel besser ist die schleifenartige Anordnung der einzelnen Zellen in dem in Figur 31 wiedergegebenen Abklatsch einer Kolonie von Stäbchenbakterien zu sehen. Auch hier neigen die Zellen nicht zur Bildung von Fäden und dennoch weisen die in der Kolonie liegenden Zellen eine Lage auf, die konzentrischen Kreisen annähernd entspricht, was besonders am Rande deutlich ist.

a b

Fig. 30.

Fig. 31.

Die feinere Untersuchung der eine Kolonie zusammensetzenden Bakterien ergibt, daß dieselbe neben den lebenden Bakterien, besonders in den mittleren Partien, eine ungeheure Anzahl nicht mehr lebensfähiger und vermehrungsfähiger Zellen enthält. Die Ursache dafür ist dem Nahrungsmangel und der Anhäufung der Stoffwechselprodukte in diesen Kolonieteilen zuzuschreiben. Den Bakterien der einzelnen Kulturpartien besondere Funktionen zuzuerkennen, wie es von Seite mehrerer Untersucher geschehen ist, geht durchaus nicht an, denn alle Zellen einer Kolonie bewahren zeitlebens ihre Selbständigkeit und sind in bezug auf ihre Lebenstätigkeit als gleichwertig zu betrachten.

Die an der Oberfläche von Agar- oder Gelatinenährböden längs eines Impfstriches entstehenden Auflagerungen zeigen Formen, die auf die Kolonieform der betreffenden Art zurückzuführen sind. Beim Anlegen der sog. „Strichkulturen“ führt man die mit dem Bakterienmaterial bedeckte Impfnadel in gerader Linie streichend über den Nährboden hin. Dabei werden besonders beiderseits vom Impfstrich die Bakterien abgestreift. Aus jeder abgelagerten Zelle entsteht eine mikroskopische Kolonie, dieselben bilden dann die makroskopisch sichtbare Auflagerung. Unter

dem Mikroskop kann man dann die einzelnen kleinen Kolonien gut wahrnehmen, die die Auflagerung zusammensetzen, wie es in dem Mikrophotogramm der Figur 32 dargestellt ist. Wir sehen hier in der Mitte den Impfstrich und rechts und links von demselben die scheibenartigen Einzelkolonien, die die zusammenhängende Auflagerung oder den Kulturrasen der Strichkultur ausmachen.

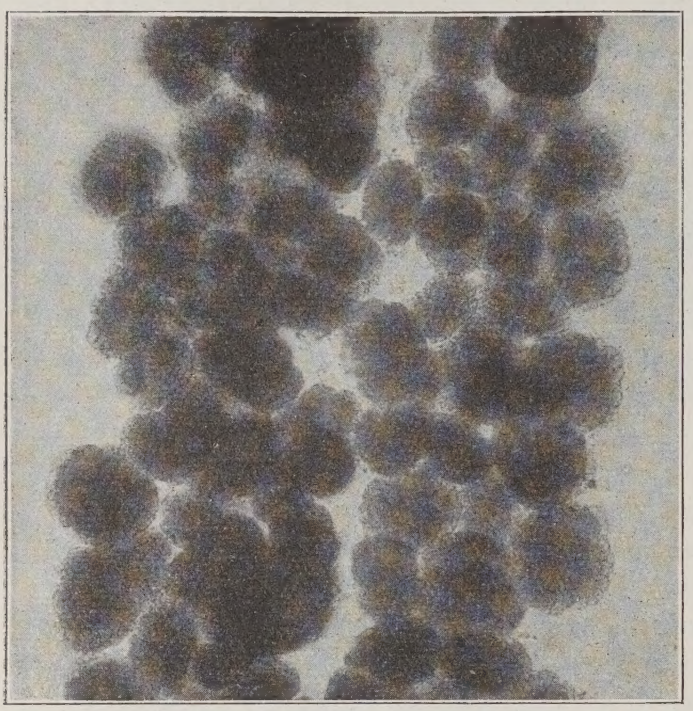


Fig. 32.

Die Größe der Kolonien der einzelnen Bakterienarten ist sehr verschieden und abhängig von der Größe der einzelnen Zellen und besonders von der Vermehrungsgeschwindigkeit derselben. Letztere wird wieder von den Ernährungsverhältnissen und der Temperatur bedingt. Natürlich spielen bei den tiefliegenden Kolonien die Druckverhältnisse im Nährsubstrat eine nicht zu unterschätzende Rolle. Die Zeit, welche eine vollständige Zellteilung braucht, pflegt man als „Generationsdauer" zu bezeichnen. Dieselbe beträgt bei den Bakterien durchschnittlich 20—40 Minuten, sofern günstige Bedingungen herrschen. Der Bacillus subtilis (Heubazillus) teilt sich etwa in einer halben Stunde, der Choleravibrio in ungefähr 20 Minuten. Diese Schnelligkeit des Teilungsvorganges mit den außerordentlich raschen Teilungsfolgen würde zu ganz enormen Bakterienmengen führen. Rechnungsmäßig müssen beim Choleravibrio unter Zugrundelegung einer Teilung in je 20 Minuten nach 24 Stunden 1600 Trillionen Nachkommen vorhanden sein. Dies würde etwa 2000 Zentner Trockensubstanz dieser Bakterienart entsprechen. Weder in der freien Natur noch im Laboratorium kommt es aber zu einer so enormen Entwicklung, denn die eigenen Stoffwechselprodukte setzen schon einer Massenvermehrung Schranken. Der Ernährungsmangel, der selbst unter den günstigsten Bedingungen bei einer solch riesigen Vermehrung alsbald sich einstellen muß, wird hier ebenfalls hindernd eingreifen. In der freien Natur wird als hinderliches Moment auch der Kampf ums Dasein auftreten, da es sich hier ja immer um Gemische verschiedener Bakterienarten handelt, die sich gleichzeitig vermehren. Endlich muß noch berücksichtigt werden, daß sich eine Zelle nicht ins Ungemessene vermehren kann, ohne daß dazwischen Ruhepausen und Ruhestadien eingeschaltet werden, wie die Erfahrung lehrt. Auch werden nicht alle Nachkommen einer Zelle gleich vermehrungsfähig sein und dieses Vermögen dauernd erhalten. Ein großer Teil derselben erliegt einem frühen Tode. Die Summe aller genannten ver-

mehrungshinderlichen Momente verhütet eine so maßlose Vermehrung, wie sie sich zahlenmäßig durch die Rechnung ergibt.

C. Entwicklungskreise der Bakterien.

Schon die Betrachtungen bei der Koloniebildung hinsichtlich der Bakterienvermehrung führen dazu, nicht eine unbeschränkte Teilungsmöglichkeit von Oidium zu Oidium anzunehmen, sondern an eingeschaltete Ruhestadien zu denken, die durch eine Abnahme der günstigen Ernährungsbedingungen infolge der Anhäufung der Zellen verursacht werden. Auch die auftretenden Stoffwechselprodukte spielen dabei sicher eine sehr bedeutende Rolle. Wenn man die verschiedenen Stadien der Entwicklung in einer Bakterienkultur genauer studiert, gewahrt man alsbald eine gewisse Gesetzmäßigkeit in dem Auftreten von Wuchsgestalten, die zu Dauerformen führen, aus denen unter günstigen Ernährungsbedingungen sich wieder neue Zellengenerationen entwickeln. Man findet also vollständige Entwicklungskreise. Dieselben enthalten für die verschiedenen Stadien eine Fülle von Formen, die zu bestimmten Dauerformen führen, die wieder verschieden ausgebildet sind. Die kleinen Entwicklungskreise bei der Vermehrung der vegetativen Bakterienzelle sind schon früher beschrieben worden, weshalb sie hier nur kurze Erwähnung an einem Beispiel finden sollen. Die Pseudomonas cerevisiae, eine Bakterie aus Flaschenbier, stellt ein Stäbchen dar. Dasselbe verlängert sich allmählich etwa auf das Doppelte und teilt sich dann in zwei Tochterstäbchen. An den Nachkommen gewahren wir eine Zeit hindurch, solange die Ernährungs- und Wachstumsbedingungen günstig bleiben, dieselben Vorgänge, die wir als kleinen Entwicklungskreis bezeichnen können.

Bei allen Bakterien hören nach einer gewissen Zeit die kleinen Entwicklungskreise auf und es kommen Formen, die schließlich zu Dauerzuständen führen. Letztere sind zur Erhaltung und Verbreitung der Art da, wenn die Bedingungen zur vegetativen Vermehrung sich verschlechtern und schließlich gänzlich aufhören. Erst aus der Dauerform entwickelt sich wieder eine Vegetationszelle, sobald erstere wieder in günstige Lebensbedingungen kommt. Daher sind sämtliche Dauerformen dadurch ausgezeichnet, daß sie widerstandsfähiger gegen schädigende Einflüsse sind, also eine völlige Austrocknung längere Zeit hindurch schadlos ertragen und auch für hohe Salzkonzentrationen und Gifte weniger empfindlich sind als die vegetativen Zellen. In vielen Fällen ertragen sie sogar ganz enorme Erwärmungen, die weit über der Koagulationstemperatur des Eiweißes liegen. Ihre Bildung stellt den Schluß des großen Entwicklungskreises einer Bakterienart vor, der also sowohl die vegetativen Formen als auch die Dauerformen umfaßt. In dem großen Entwicklungskreis ist der kleine immer eingeschlossen oder einbezogen, da wenigstens bei den Bakterien die Dauerzelle sich nicht unmittelbar in zwei Dauertochterzellen teilen kann oder aus ihr eine zweite Dauerzelle keimt. Die folgende schematische Darstellung in Figur 33 gibt die Entwicklungskreise von Bacillus subtilis (Heubazillus) wieder. Wenn wir von der vollentwickelten Vegetationsform ausgehen, so verlängert sie sich und teilt sich schließlich. Dies wiederholt sich weiter bei den Tochterzellen. Immer werden „Schwärmer", also begeißelte Vegetationsformen, ausgebildet, die den kleinen Entwicklungskreis ausmachen. Nachdem dies durch einige Generationen hindurch geschehen

ist, bleiben bei den folgenden Teilungen die noch immer mit Geißeln versehenen Teilungsprodukte im Verbande und bilden gut bewegliche Ketten. Nun nehmen die Teilungen ab und werden schließlich gänzlich eingestellt. Im Zellkörper der einzelnen Fadenglieder treten hierauf

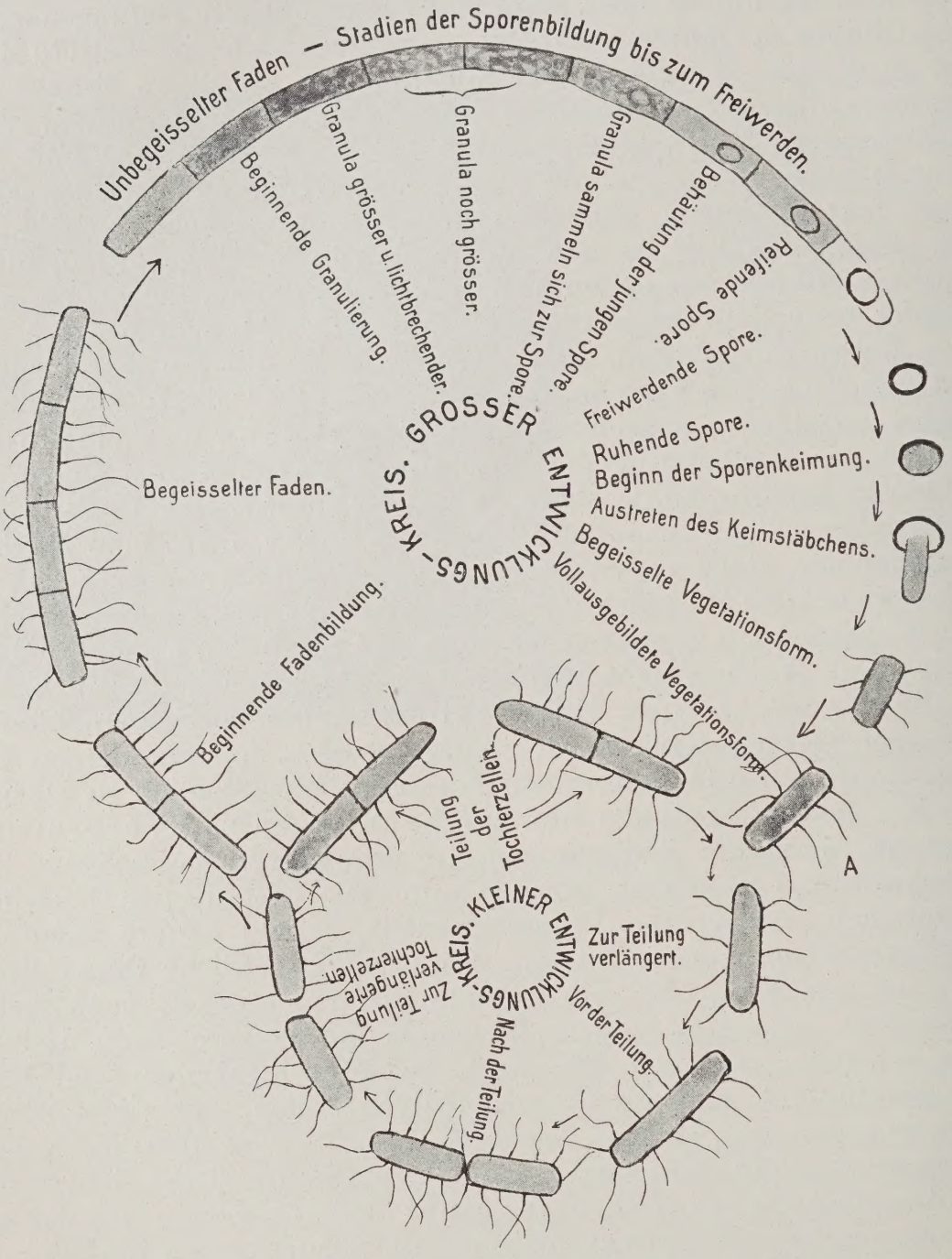


Fig 33.

immer größer werdende Granula auf, deren Lichtbrechungsvermögen zunimmt. Diese Granula vereinigen sich und bilden eine neue Zelle in der Vegetationszelle, die Dauerzelle, die allmählich heranreift und sich fest umhäutet. Nach vollendeter Reife wird sie durch Zerfall der Mutterzelle frei. Kommt nun diese Dauerzelle auf einen tauglichen Nährboden, so quillt sie an, keimt dann, und aus dem Keimstäbchen geht eine neue Vegetationszelle hervor, die wieder den Entwicklungskreis durchläuft.

Solche dick umhäutete Dauerzellen werden aber nicht bei allen Bakterien ausgebildet, wenn auch bei ihnen ein Dauerstadium oder eine Ruhepause sicherlich eintritt. Hier treten an die Stelle der einen, von einer Zelle gebildeten Spore oder Dauerform Granula oder Körnchen, aus denen sich ebenfalls wieder Vegetationsformen entwickeln können. Diese Art von Sporenbildungen erweist sich weit weniger resistent gegen ungünstige Einflüsse, aber doch viel widerstandsfähiger als die Vegetationszelle. Hier wird im Entwicklungskreis die Dauerform durch diese konidienartigen Bildungen ersetzt.

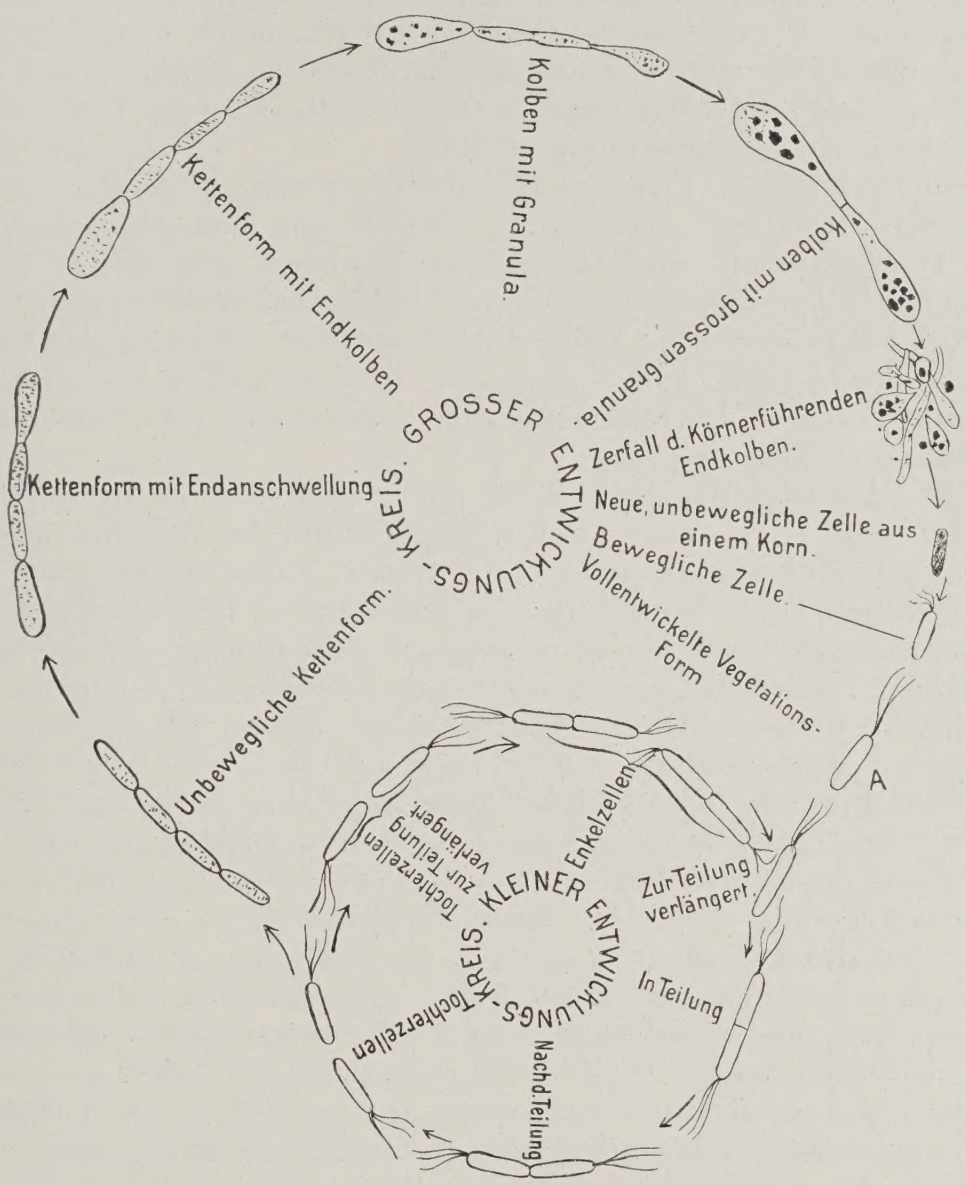


Fig. 34.

Der obigen, in der Figur 34 wiedergegebenen schematischen Darstellung des Entwicklungskreises nicht sporenbildender Bakterien sind Befunde zugrunde gelegt, die sich auf Pseudomonas cerevisiae, eine Flaschenbierbakterie, beziehen. Wir wollen wieder von der voll entwickelten Vegetationsform *A* ausgehen. Dieselbe verlängert sich zur Teilung, bildet ein zweites Büschel Geißel am entgegengesetzten Pol aus und teilt sich dann. Diese Erscheinungen wiederholen sich durch einige Generationen hindurch. Dann nimmt die Wachstumsenergie ab und es

entstehen bei den nun folgenden langsamen Teilungen bewegungslose Ketten, die keine Geißeln mehr besitzen. Jetzt hört jede Teilung vollends auf und das Protoplasma der einzelnen Zellen in den Kettenverbänden wird fein granuliert. Die beiden Endzellen der Kette vergrößern sich nun kolbig oder birnenförmig, die Granula werden größer und die Scheidungswände von den der birnenförmigen Auftreibung benachbarten Zellen verschwinden. Die Granula vergrößern sich noch mehr und fließen fast sämtlich in die Endkolben. Schließlich zerfallen letztere und die großen Körner werden frei und liegen in einem Gemengsel von Plasmaresten und Zellwandstücken, das man kurz als Bakteriendetritus gemeiniglich bezeichnet. Kommt dieser Detritus auf ein neues, brauchbares Substrat, so entwickeln sich aus den großen Körnern neue, in der Jugend noch unbegeißelte Vegetationszellen, die alsbald Geißeln treiben und in den kleinen Entwicklungskreis eintreten.

An der genannten Pseudomonasart kann man diese Erscheinungen in alten Kulturen und auch dann beobachten, wenn künstlich durch höhere Temperaturen und Salzkonzentrationen ungünstige Vermehrungs- und Wachstumsbedingungen geschaffen werden. Almquist u. a. haben ähnliches auch bei einer Reihe anderer nicht sporenbildender Bakterien beobachtet, wenn auch die einzelnen Formen des ganzen Entwicklungskreises Verschiedenheiten aufweisen, was auch für die sporenbildenden Bakterien gilt.

An den Entwicklungskreis nicht sporenbildender Bakterien schließt jener der Fadenbakterien an, die meistens nur im Wasser oder in sehr dünnflüssigen Nährsubstraten in der freien Natur vorkommen. Man findet bei ihnen keine Dauerform, die hinsichtlich ihrer Resistenz gegen ungünstigen Einfluß auch nur annähernd den sporogenen Körnern der Pseudomonas cerevisiae gleichkommt. Es handelt sich vielmehr um aus dem Zellfadenverband frei werdende Zellen, die in der Flüssigkeit entweder passiv weitergespült werden oder sich durch Geißeln oder eigenartiges Kriechen oder Pendeln fortbewegen. Man bezeichnet diese Gebilde als Konidien, deren genaue Beschreibung später erfolgt.

In Figur 35 ist der Entwicklungskreis von Cladothrix, einer wasserbewohnenden Scheiden- oder Fadenbakterie, schematisch dargestellt. Auf der Unterlage *a* hat sich ein bescheideter Zellfaden, frei in die Flüssigkeit hineinragend, ausgebildet. Die einzelnen Zellen des Fadens sind durch Querteilung entstanden und stehen durch Plasmodesmen miteinander in Verbindung. Nachdem die Vermehrung so eine Zeit hindurch stattgehabt hat, findet eine vollkommene Abspaltung von Tochterzellen statt, die eine mehr ovale bis eiförmige Gestalt annehmen und vor dem Austritt aus der gemeinsamen Scheide subpolar ein Geißelbüschel hervortreiben. Mit diesem schwimmen sie eine Zeitlang in der Flüssigkeit herum. Diese Art von Konidien bezeichnet man deshalb auch als Schwärmkonidien. Das Schwärmkonidium setzt sich dann an einer Unterlage (*b*) fest, verliert seine Begeißelung, was durch Punktierung derselben angedeutet ist, und teilt sich einfach nach entsprechender Längsstreckung in gewöhnlicher Weise weiter, wobei wieder eine gemeinsame Scheide ausgebildet wird. So entsteht eine neuer Zellfaden, an dem sich nach einiger Zeit dasselbe Spiel wiederholt.

Aus dem ganzen Vorgange ersieht man, daß es sich bei den Konidien durchaus nicht um den Sporen der Bakterien adäquate Gebilde handelt,

sondern lediglich um Zellen, welche zur Verbreitung der Art dienen, da ja aus jedem solchen Konidium an einer anderen Stelle des Standortes ein neuer Zellfaden entstehen kann.

Bei den verschiedenen Entwicklungsstadien von Bakterien, insonderheit Purpur- und Schwefelbakterien, sind Erscheinungen beobachtet worden, die an Kopulationsvorgänge erinnern, wie sie bei Eumyceten schon lange bekannt sind. Schon vor über dreißig Jahren hat Förster in einem Faulwasser reichlich Chromatien gesehen, die durch eine Brücke starr miteinander verbunden waren und sich bei längerer Untersuchungsdauer wieder trennten. In diesem Vorgange hat Förster bereits Kopulationserscheinungen vermutet, bei denen ein Stoffaustausch zwischen den beiden Zellen erfolgt. Später haben sich Löhnis und dann Pottkoff mit Untersuchungen über diesen Vorgang eingehend beschäftigt. So konnte Pottkoff bei Chromatium Okenii, Chromatium Weissii und Chromatium violascens Brücken und nach Lösung der Brücken verbleibende Knospen an den Zellwänden feststellen. Auch an Spirillum photometricum, Spirillum rubrum und Pseudomonasarten sind solche Bildungen und vorübergehende Zellverbindungen beschrieben, die besonders bei etwas erhöhter Temperatur auftreten. Wenn die Frage der Sexualität bei den Bakterien heute wohl noch nicht mit Sicherheit beantwortet werden kann, scheinen diese Befunde doch den Gedanken an eine solche zu rechtfertigen und zu weiteren Untersuchungen in dieser Richtung anzuspornen.

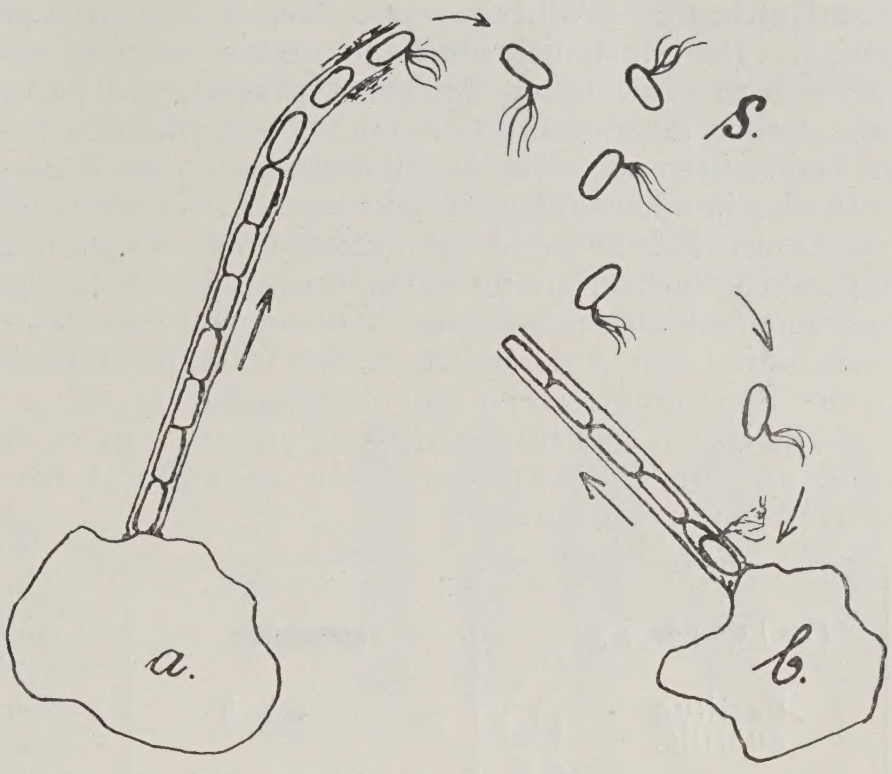


Fig. 35.

D. Bildung der Bakteriensporen.

Bei der Beschreibung des Entwicklungskreises von Bacillus subtilis (Heubazillus) wurde der Sporen als Dauerformen bereits kurz Erwähnung getan. Im allgemeinen entsteht die Spore durch eine freie Zellbildung in einem aus dem Oidium hervorgegangenen Sporangium. Die bei diesem Übergang oder bei dieser Zellbildung auftretende Veränderung des Zellinhaltes läßt sich nicht einheitlich darstellen, weil sie sich nicht nur bei den einzelnen Bakterienarten verschieden erweist, sondern sogar bei Individuen einer und derselben Art. Die Veränderung des

Zellinhaltes bei der Ausbildung des Sporangiums wird meist auch von einer Gestaltsveränderung der Zelle selbst begleitet. In vielen Fällen entspricht aber die Form des Sporangiums genau derjenigen der vegetativen Zelle. Allen diesen Vorgängen ist aber eine Kondensierung und Verdichtung des Plasmas mit den Kernäquivalenten zugrunde gelegt. Der stark lichtbrechend und wasserarm gewordene Zellinhalt, der sich in bestimmten Zellbezirken ansammelt, umgibt sich mit einer sehr derben Membran, an der eine Schichtung und Strukturierung häufig zu beobachten ist. Die Ausbildung der Spore im Sporangium geschieht entweder in oder nahe dem Zentrum oder an einem Pole. Als streng artcharakteristisch kann die Sporenlage im Sporangium nur bei jenen Arten angesehen werden, die ihre Dauerform in einer Endauftreibung des Sporangiums ausbilden, während bei denjenigen Bakterien, die bei der Sporulation eine Auftreibung in der Zellmitte aufweisen, die Sporenlage in der Sporenmutterzelle sehr verschieden ist.

Die Form des Sporangiums entspricht entweder genau derjenigen der vegetativen Zelle oder weist ihr gegenüber Verschiedenheiten auf.

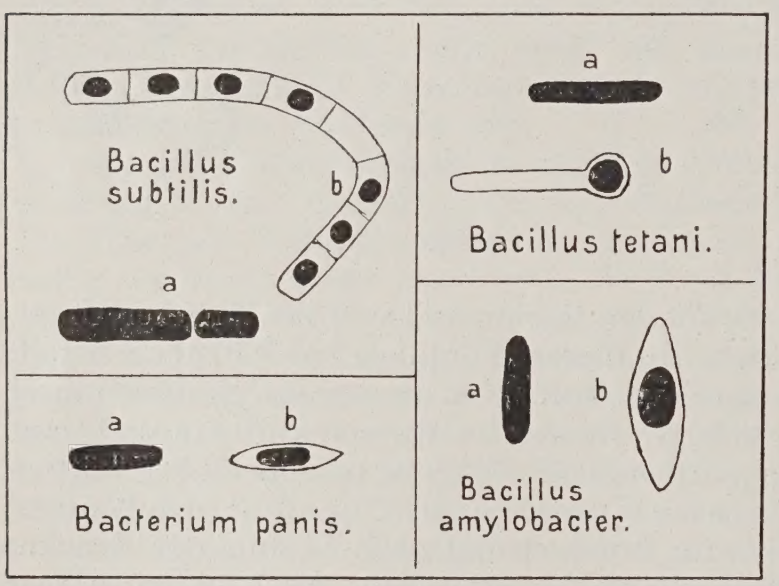


Fig. 36.

In der folgenden Abbildung 36 ist eine Reihe von ausgebildeten Sporangien mit den fertigen Sporen schematisch wiedergegeben. Beim Bacillus subtilis sehen wir keinen Unterschied zwischen der Form des Sporangiums (*b*) und der vegetativen Zelle (*a*). Die gleichen Erscheinungen finden wir auch beim Anthraxbakterium. Bacterium panis, ein Erreger des Fadenziehens beim Brote, zeigt zugespitzte Sporangien (*b*), deren Querdurchmesser aber denjenigen des Oidiums (*a*) nicht überschreitet. Solche zugespitzte Formen bezeichnen wir als Clostridien. Bacillus amylobacter weist in seinen Sporangien (*b*) ebenfalls die Clostridiumform auf. Die Sporangien sind gegenüber den Oidien aber beträchtlich vergrößert. Beim Bacillus tetani, dem Erreger des Wundstarrkrampfes, finden wir die Sporen polar gelagert, so daß Trommelschlägerformen oder Plektridien (*b*) zur Ausbildung gelangen. Das Sporangium zeigt dementsprechend an einem Pole eine kugelförmige Erweiterung, in der die Spore sitzt. Die übrigen Teile sind nicht anders geformt als bei der vegetativen Zelle (*a*).

Die Form der Clostridien ist aber bei einer und derselben Bakterienart nicht eine durchwegs gleiche, wie die Untersuchungen Bredemanns u. a. ergeben haben. Neben der Spindelform findet sich auch, wenn auch weniger häufig, eine Plektridienform, die aber nicht so rein

eingehalten ist wie bei der oben genannten Art. Die Verschiedenheiten der Sporangienform von Bacillus amylobacter ist in Figur 37 wiedergegeben. Die Zeichnungen sind hier etwas schematisiert nach den Untersuchungen Bredemanns angefertigt. Man sieht, daß die Clostridiumform bald mehr, bald weniger deutlich zum Ausdrucke kommt und mitunter auch Plektridien in Erscheinung treten (*p*).

Die Spore wird nun im jungen Sporangium allmählich herausgebildet oder besser gesagt, die Sporenbildung fängt mit der Umwandlung des Oidiums ins Sporangium an. Die dabei auftretenden Erscheinungen im Zellkörper sind sicherlich bei den einzelnen Bakterienarten verschieden, wenn sie auch überall darauf hinausgehen, eine Verdichtung der Inhaltsmassen herbeizuführen. Nur wenige Bakterienarten wurden auf die Morphologie der Sporenbildung hin genauer untersucht, von denen einige hier dafür als Beispiele aufgeführt werden sollen.

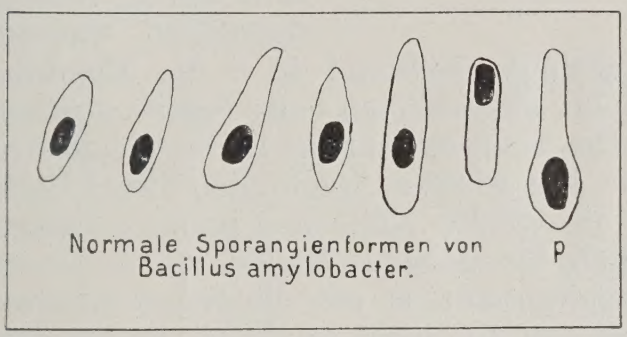


Fig. 37.

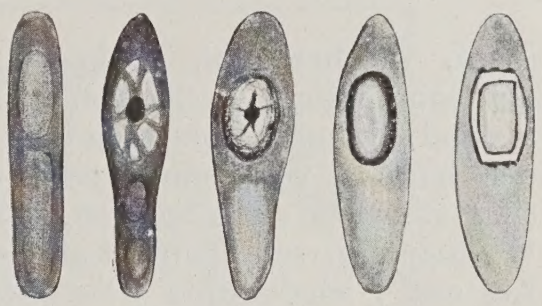


Fig. 38.

Die Sporulation von Bacillus asterosporus, den Arthur Meyer und Bredemann besonders eingehend untersuchten, beginnt mit einer Anschwellung des nun nicht mehr beweglichen Oidiums und dem Auftreten einer Art Vakuole in der Nähe eines Poles. Der Vakuoleninhalt ist nicht nennenswert lichtbrechender als der übrige Zellinhalt. Gleichzeitig findet in dem nun jungen Sporangium eine Speicherung von Glykogen statt, das größtenteils bei der Sporenbildung wieder aufgebraucht wird. In dem Vakuoleninhalt gewahrt man gelegentlich ein kleines, stark lichtbrechendes Körperchen, das als Sporenkern zu deuten ist. In Figur 38, *a*, *b* und *c* sind diese Stadien der Sporulation nach den Untersuchungen und Abbildungen A. Meyers wiedergegeben. In der Folge kondensiert sich der Inhalt der Sporenanlage immer mehr und wird stärker lichtbrechend. Gleichzeitig hellt sich das Zytoplasma in der Umgebung der Sporenanlage auf (Figur 38, *d*) und um dieselbe wird eine Membran ausgebildet, die bei dieser Bakterienart noch Leisten trägt. Die Spore ist dann fertig (Figur 38, *e*) und wird nach Auflösung der Sporangiummembran frei. Die Sporenbildung zahlreicher Bakterienarten verläuft nach diesem Typus.

In ähnlicher Weise werden auch die Sporen von Bacillus amylobacter ausgebildet, nur kommt es dabei hier noch zur Speicherung von Jogen neben dem Glykogen. Beide Stoffe werden besonders in dem Zellteil aufgestapelt, der keine Spore ausbildet. Hier liegt die Spore in dem Clostridium meist in einer Zellhälfte einem Pole genähert, während die andere Hälfte die Reservestoffe beherbergt, die oft nur zum Teil bei der Sporulation verbraucht werden. Beim Freiwerden der reifen

Spore wird in der Regel die Wand des die Reservestoffe enthaltenden Sporangiumabschnittes allmählich gelöst oder abgebrochen, während der übrige um die Sporen liegende Wandteil sich erhält. Die Spore bleibt dann in der hyalinen Grundmasse des Sporangiums eingebettet liegen.

Fig. 39.

In Figur 39 sind die Erscheinungen des Freiwerdens der reifen Spore von Bacillus amylobacter nach den Untersuchungen und Abbildungen von Bredemann dargestellt. Wir sehen in *a* das in Lösung begriffene Sporangium, welches noch Glykogen enthält, während in *b* die Membran des Sporangiums an der von der Spore abgekehrten Seite bereits geöffnet ist und Glykogen austreten läßt. Die Sporangiumhaut in der Umgebung der Spore ist vollkommen erhalten. Die anderen Sporangien dieser Figur sind zum Teil aufgebrochen, und das in der Nähe der Spore gelagerte Glykogen (*g*) verschwindet allmählich, bis die Spore frei ist, die in diesem Zustand *f* wiedergibt. Die Sporangiumhaut ist um die Spore erhalten und sieht deutlich abgerissen aus, so daß die Spore wie in ein Becherchen eingelagert erscheint und gleichsam eine „Sporenkapsel" trägt.

Ambrož und Ružička untersuchten die Sporenbildung von Bacillus nitri und Bacterium anthracis und fanden dabei eine besondere Anordnung und Veränderung des Chromatins, das in der fertigen Spore in das Plastin übergegangen sein soll, weshalb der Sporenkörper keine Färbungen mehr annimmt.

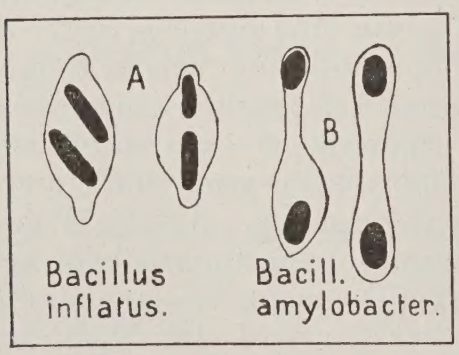


Fig. 40.

In der Regel wird in der Zelle nur eine einzige Spore gebildet. Ausnahmen kommen aber nicht allzu selten vor. Um nur wenige Beispiele aufzuführen, sei der Bacillus inflatus genannt, der häufig in dem clostridiumförmigen Sporangium zwei Sporen enthält, wie es die Abbildung *a* der Figur 40 nach A. Koch zeigt. Auch der schon vielgenannte Bacillus amylobacter enthält in einem Sporangium ab und zu zwei Sporen, die dann aber an den beiden entgegengesetzten Polen desselben liegen, wie es nach Bredemann *B* der Figur 40 aufweist.

Solche, durch freie Zellbildung hervorgegangene endogene Sporen finden wir nur bei zahlreichen Stäbchenbakterien und einer einzigen Spirille, dem Spirillum endoparagogicum, das Sorrokin untersuchte.

Die Sporenbildung ist von einer Reihe äußerer Momente abhängig, ebenso die Geschwindigkeit des ganzen Vorganges. Bedingung dafür ist, daß das Oidium sich in guten Ernährungsbedingungen befindet und bei

einer Temperatur gehalten wird, bei der maximale Vermehrung eintritt (Temperaturoptimum). Zu hohe und niedere Temperaturen verzögern oder verhindern die Sporenbildung vollständig. Sobald die gut ernährten Oidien oder vegetativen Zellen in ungünstige Ernährungsbedingungen gelangen, oder eine Anhäufung von Stoffwechselprodukten in den Kulturen statthat, setzt die Sporenbildung ein. In vielen Fällen fördert die Sporulation auch eine gute Durchlüftung, weil der Sauerstoff der Luft dann genügend Zutritt hat.

E. Bildung der Bakterienkonidien.

Die Konidien haben weder morphologisch noch physiologisch mit den Sporen der Bakterien etwas gemein. Wir können sie nicht einmal als Dauerform bezeichnen, da sie keinen Ruhezustand im Entwicklungskreis dieser Bakterien vorstellen, sondern lediglich zur

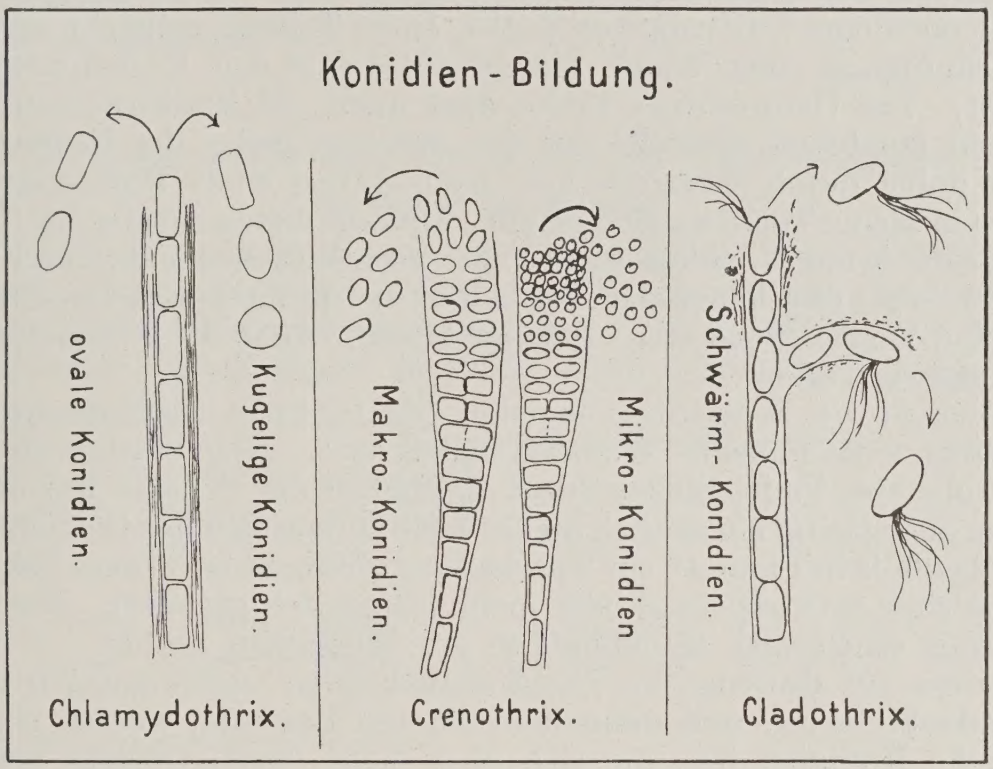


Fig. 41.

Vermehrung der Art dienen. Sie sind dementsprechend auch keineswegs resistenter als die anderen Formen. Sie werden auch nicht durch eine freie Zellbildung in einer Zelle hervorgebracht, sondern entstehen unmittelbar durch Umwandlung aus einer beliebigen Zelle des Bakterienfadens, die dabei frei wird.

Die Konidien zeigen auch keinen Keimungsprozeß. Sie werden, wie schon gesagt, nur von den Scheidenbakterien ausgebildet, die sich immer nur im Wasser vorfinden, teils in stehendem, teils in fließendem. Die meisten von ihnen sind seßhaft, d. h. ihre Fäden sitzen an Steinen u. dgl. mit einem Ende fest. Aus dem anderen Fadenende treten die Konidien aus und werden dann entweder durch den Wasserstrom weiterbefördert oder bekommen Geißeln, mit denen sie sich aktiv im Wasser fortbewegen. Die letztere Art beweglicher Konidien bezeichnet man auch als „Schwärmer“ oder „Schwärmkonidien“. Nach einiger Zeit

des Schwärmens oder der passiven Weiterbeförderung im Wasser setzen sich die Konidien fest und wachsen durch Querteilung und Ausbildung einer Scheide zu neuen Fäden aus. Sowohl die Konidienbildung als auch die Konidien selbst sind bei den einzelnen Scheidenbakterienarten verschieden.

Einen Überblick über diese Verhältnisse gibt die schematische Darstellung der Figur 41. Bei Clamydothrix, unverzweigt wachsenden Scheidenbakterien, entstehen die Konidien durch Austritt der Fadenglieder aus der offenen Scheidenmündung. Die freigewordenen Zellen runden sich zu ovalen oder kugeligen Gebilden ab. Etwas anders verläuft die Konidienbildung bei der Crenothrix polyspora, dem sog. Brunnenfaden. Hier verbreitet sich der Zellfaden dort, wo am Ende die Konidien auftreten, wie es in Figur 41 angegeben ist: Die einzelnen Zellen werden breiter, runden sich ab und treten dann als sog. „Makrokonidien" aus der freien Scheidenmündung oder es erfolgt vor der Rundung und dem Austritt noch eine Teilung der Zelle. Diese Teilung vollzieht sich dann durch Einfügung einer Wand, die parallel mit der Fadenachse gestellt ist. Die Crenothrix bildet aber auch „Mikrokonidien" aus. Dieselben entstehen ebenfalls aus den obersten Zellen des Fadens. Sie werden dabei durch Scheidewände nach allen drei Richtungen des Raumes in kleine Tochterzellen geteilt. Hierauf treten sie aus der Scheide aus. Beide Arten Konidien dienen der Vermehrung der Art und haben bisher in ihrem physiologischen Verhalten und in ihrer weiteren Entwicklung keine Verschiedenheiten erkennen lassen. Auch diese Konidien sind nicht eigenbeweglich.

Bewegliche Konidien erzeugt Cladothrix dichotoma, eine sehr häufig vorkommende Wasserfadenbakterie. Hier werden oft ganze Reihen oberster Fadenglieder durch Zerfließen der Scheide frei und bekommen gleichzeitig ein seitlich an der Zelle entspringendes Geißelbüschel, wie es ebenfalls in Figur 41 zur Anschauung gebracht ist. Diese Schwärmkonidien sind entweder oval oder mehr zylindrisch gestaltet. Nach dem Freiwerden schwärmen sie lebhaft in der Flüssigkeit umher.

Bei der zur Gattung der „Schwefelbakterien" gehörigen Thiotrix, einer fadenbildenden und dünn bescheideten Bakterie, werden ebenfalls bewegliche Konidien frei, die sich aber nicht durch Geißeln bewegen, sondern kriechende Bewegungen ausführen. Hier werden nicht nur einzelne Zellen aus dem Verbande frei, sondern auch kürzere, nur aus wenigen Einzelzellen bestehende Fadenstücke, deren einzelne Zellen sich aber nur in einem sehr losen Verbande befinden. Sie bewegen sich durch Biegungen der Zelle vorwärts, ähnlich wie die Beggiatoen und Oscillarien (blaugrüne Algen).

Nachdem sich die Konidien einige Zeit in der Flüssigkeit frei befunden haben, setzen sie sich mit einem Ende an eine Unterlage fest. Dabei wird eine Kittmasse oder ein Klebestoff ausgeschieden. Sie vermehren sich weiterhin durch Querteilung wie die übrigen Bakterien und bilden dabei wieder die langen bescheideten Fadenverbände aus.

Anhangweise seien hier auch die früher vielfach beschriebenen „Arthrosporen" erwähnt. Sie sollen einfach durch Umwandlung der vegetativen Zelle in eine Dauerzelle zustande kommen und nach der Meinung einiger Untersucher überall dort entstehen, wo die zuerst beschriebenen endogenen Sporen fehlen. Dabei handelt es sich aber nicht um eine Zell-

bildung in der Zelle. Die vegetative Zelle erhält höchstens eine etwas verdickte Membran. Besonders an Kugelbakterien sind Arthrosporen-Bildungen beschrieben worden, wie bei dem schon genannten Leuconostoc (Streptococcus) mesenterioides, dem Froschlaichbakterium. Hier findet man in der Tat, in den Verlauf der Kugelkette eingeschaltet, bedeutend vergrößerte Kugeln, denen man Sporencharakter beilegte und die man als Arthrosporen bezeichnete. Ihnen fehlt aber das erste und wichtiste Sporenmerkmal: die Keimfähigkeit. Kein Forscher hat jemals die Keimung einer solchen Kugel gesehen. Wenn wir ehrlich sein wollen, müssen wir gestehen, daß wir die Natur dieser Gebilde nicht näher kennen. Wir wissen nur soviel, daß sie mit den endogenen Sporen nichts gemeinsam haben. Sie sind höchstens mit den bei Cyanophyceen vorkommenden „Grenzzellen" oder „Heterocysten" zu vergleichen, deren Bedeutung aber ebenfalls noch nicht klargestellt ist. Vorläufig tun wir besser, den Ausdruck Arthrospore aus der Bakteriologie gänzlich zu entfernen.

F. Form, Größe und feinerer Bau der Bakteriensporen.

1. Form der Sporen.

Bei den einzelnen Bakterienarten haben die reifen Sporen eine verschiedene Form, die auch bei den Sporen einer und derselben Art eine große Mannigfaltigkeit aufweist. In Figur 42 sind typische Sporenformen verschiedener Bakterienarten nach den Untersuchungs-

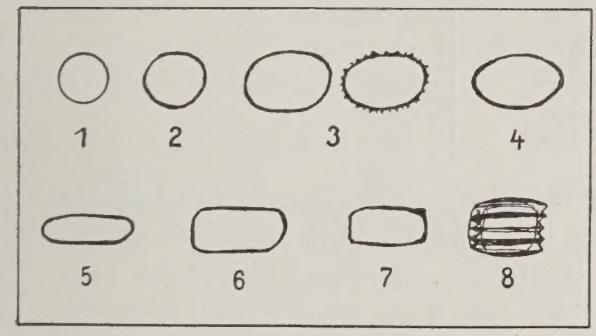


Fig. 42.

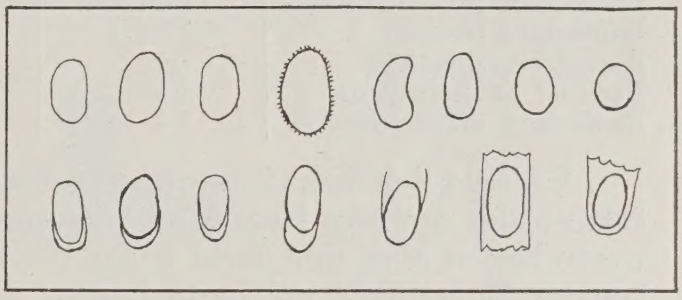


Fig. 43.

ergebnissen zahlreicher Autoren zusammengestellt: 1 dieser Figur entspricht den kugeligen Sporen von Bacillus tetani, dem Erreger des Wundstarrkrampfes, 2 den leicht ovalen, fast kugeligen Sporen von Bacillus subtilis, dem Heubazillus, 3 den schon länglicheren Dauerformen des Bacillus amylobacter, von denen die rechts abgebildete feine Körnchen und Höckerchen an der Oberfläche trägt. Bacillus mycoides bildet noch länglichere, ovale Sporen (4) aus, deren Form beim Bacillus inflatus sich schon sehr dem an den Enden abgerundeten Stäbchen (5) nähert. 6 und 7 entsprechen Sporenformen von Bacillus teres und Bacillus leptodermis, die fast scharfe Kanten aufweisen und im Längsschnitt fast eine Rechteckform zeigen. Die Sporen von Bacillus asterosporus (8) haben eine Tonnenform mit vorspringenden Längsleisten. Dies sind so die Typen der Sporenformen; daneben finden sich alle erdenklichen Übergänge und auch einseitig abgeplattete und nierenförmig eingezogene Sporen.

Die Sporen einer einzelnen Bakterienart weisen ebenfalls recht beträchtliche Unterschiede in der Form auf, wofür uns wieder der Bacillus amylobacter ein ausgezeichnetes Beispiel gibt. In der Figur 43 sind die verschiedenen Formen der Sporen dieser Bakterienart nach Bredemann wiedergegeben. Wir sehen hier neben elliptischen und ungleich gerundeten Formen auch eine nierenartig gestaltete und eine fast kugelige Spore. In der unteren Reihe sind Sporen mit erhaltener „Sporenkapsel", die entweder nur einem Sporenpol aufsitzt oder die Spore wie eine Röhre umgibt. Wie schon früher hervorgehoben, handelt es sich hier um Reste der Sporangiummembran.

2. Größe der Sporen.

Die Bakteriensporen besitzen sowohl bei den einzelnen Arten als auch bei den Individuen einer bestimmten Art verschiedene Größe. Im allgemeinen geht ihr längerer Durchmesser über 3 Mikren nicht hinaus. In der folgenden Tabelle sind einige Sporengrößen zusammengestellt.

Bakterienart	Durchschnittl. Größe in μ		Autor
	Länge	Breite	
Bacillus arterosporus . .	2,29	1,28	Bredemann
Bacillus amylobacter . .	2,11	1,19	Bredemann
Bacterium flexile	1,9	1,12	Burchard
Bacillus mycoides. . . .	1,4—2,4	0,83—0,91	Holzmüller
Bacillus dilaboides . . .	1,5—1,9	0,7—0,9	Haselhoff u. Bredemann
Bacterium pituitans . .	1,9	1,08	Burchard
Bacterium peritomaticum	1,63	1,3	Burchard
Bacterium panis	1,3—1,1	0,5—0,8	Fuhrmann
Rauschbrandbazillus . .	1,5	0,98	berechnet nach Hibler
Bacillus megatherium . .	1,5	0,9	Neide
Bacterium brachysporum	1,3	1,06	Burchard

Es ließe sich diese Zusammenstellung noch sehr erweitern, da über die Sporen der meisten Bakterien Messungen vorliegen. Die Durchschnittswerte haben aber nur dann einen Wert, wenn ihnen sehr zahlreiche und genaue Messungen zugrunde liegen, wie es bei dem von Bredemann untersuchten Bacillus amylobacter und Bacillus asterosporus der Fall ist. Hier ist das Mittel von 1000 Messungen angegeben.

Die Abweichungen der Abmessungen der Sporen einer Bakterienart sind übrigens manchmal so beträchtlich, daß man versucht ist, an ein Gemisch zweier verschiedener Bakterienarten zu denken. Die genaue Untersuchung der Sporengrößen von einer Reihe für verschieden gehaltener und auch dementsprechend verschieden benannter Bakterienarten ergab oft die Zusammengehörigkeit und Arteinheit derselben. Von den wenigen diesbezüglich einwandfreien Untersuchungen sei diejenige Bredemanns über die verschiedenen Stämme von Bacillus amylobacter hervorgehoben, aus der hervorgeht, daß zahlreiche Clostridienarten verschiedener Autoren identisch sind, da sich neben anderen gemeinsamen Eigenschaften auch die Verschiedenheiten der Sporengröße bei den einzelnen untersuchten Arten im wesentlichen gleich sind. Als Beispiel sei nur ein kleiner Auszug aus der Zusammenstellung Bredemanns herausgegriffen. Sämtliche Kulturen wurden unter denkbar gleichen Bedingungen gehalten, um zu Vergleichen brauchbare Ergebnisse

zu erhalten. Immer wurden 50 Sporen gezeichnet und gemessen, die Anzahl der Sporen gleicher und bestimmter Größe ausgezählt und tabellarisch zusammengestellt, wie folgendes Beispiel zeigt:

Sporenmaße verschiedener Stämme des Bacillus amylobacter:

	Stamm 57, Kamerungebirge, Moliwe.	„Granulobacter butylicum" Beijerinck	„Granulobacter pectinovorum" Beijerinck et van Delden	„Bacillus amylobacter I" Gruber
Von 50 ausgemessenen Sporen	Anzahl derjenigen von der			
Breite 0,8 μ	—	1	—	—
„ 1,0 μ	8	9	10	30
„ 1,2 μ	33	28	28	18
„ 1,4 μ	9	12	12	2
„ 1,6 μ	—	—	—	—
„ 1,8 μ	—	—	—	—
Länge 1,8 μ	4	6	4	7
„ 2,0 μ	27	19	23	24
„ 2,2 μ	11	25	15	11
„ 2,4 μ	8	8	8	5
„ 2,6 μ	—	2	—	2
„ 2,8 μ	—	—	—	1

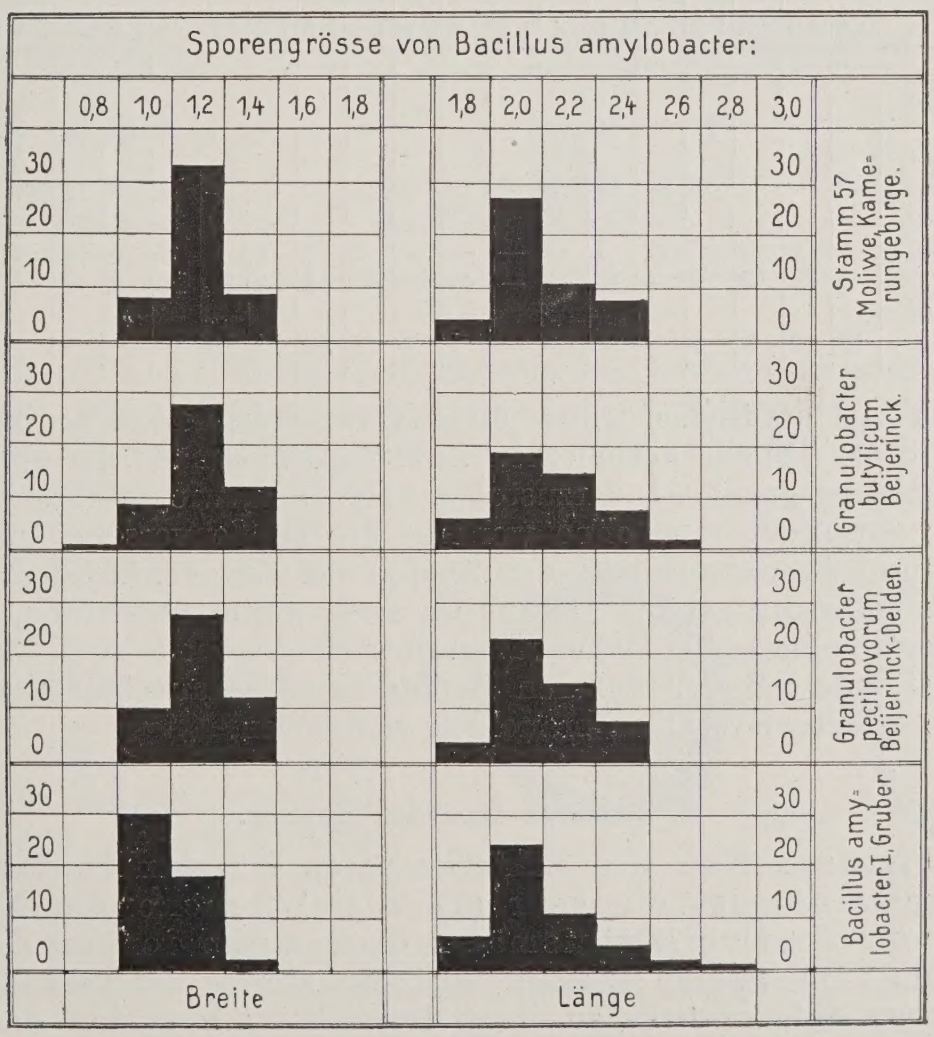


Fig. 44.

Noch anschaulicher werden diese Verhältnisse, wenn man die Zählergebnisse graphisch darstellt, wie es nach Bredemann in der Figur 44 (Seite 67) geschehen ist. Hier sind auf der Abszisse die Breiten und Längen aufgetragen, während auf der Ordinate jene Zahlen verzeichnet sind, die angeben, wieviel von je 50 ausgemessenen Sporen die entsprechende Breite, bzw. Länge aufweisen.

Diese Darstellung gibt auch ein vorzügliches Bild von der „Variation" der Sporengröße einer Bakterienart überhaupt und von der bei einer Art hauptsächlich vorkommenden Größe.

Die Sporengröße einer Bakterienart ist aber auch wesentlich abhängig von der Beschaffenheit des verwendeten Nährsubstrates, wie unter anderen aus den Untersuchungen Bredemanns über Bacillus amylobacter zu entnehmen ist. Die folgende kleine Zusammenstellung der Sporengrößen auf fünf verschiedenen Nährsubstraten unter Gleichhaltung aller anderen äußeren Bedingungen läßt sofort Unterschiede erkennen.

Sporengröße des Stammes „Buitenzorg" (17a) von Bacillus amylobacter auf verschiedenen Nährsubstanzen nach Bredemann.

	Anzahl von 50 gemessenen Individuen mit der Breite								Länge											
	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	1,8	2,0	2,2	2,4	2,6	2,8	3,0
Dextr.-Agar neutral . .	—	—	—	11	20	14	5	—	—	—	—	—	—	1	3	21	12	9	2	1	1
Dextr.-Agar, alkalisch .	—	—	—	4	20	21	5	—	—	—	—	—	—	—	1	9	12	17	10	1	—
Agar ohne Dextrose .	—	2	10	20	17	1	—	—	—	—	2	7	6	6	3	5	6	6	4	4	1
Erdagar . .	1	19	17	9	4	—	—	—	—	—	—	1	7	17	14	9	2	—	—	—	—
Dextr.-Agar + MgO. .	12	26	9	2	1	—	—	—	1	3	5	20	11	10	—	—	—	—	—	—	—

Noch viel deutlicher treten diese Verschiedenheiten hervor, wenn wir die in der Tabelle enthaltenen Zahlenangaben nach der oben angegebenen Manier graphisch darzustellen versuchen, wie es Figur 45 zeigt.

Hier entnimmt man ohne weiteres die Größenverschiebungen der Längen- und Breitenausmaße der Sporen bei den verschiedenen angewendeten Nährsubstraten. Daraus ist auch weiter ersichtlich, wie unbedingt notwendig es bei Maßangaben über Sporen- oder auch Bakteriengrößen ist, alle näheren äußeren Bedingungen genauestens anzugeben, wenn die erhaltenen Zahlen brauchbar sein sollen.

3. Feinerer Bau der Sporen.

Der feinere Bau der Bakteriensporen ist ziemlich einheitlich. Im allgemeinen ist ein sehr stark lichtbrechender Plasmakörper von einer verhältnismäßig dicken und derben Zellhaut umgeben. Die Sporen nehmen nur sehr schwer die gebräuchlichen Anilinfarben auf, weshalb zu ihrer Darstellung besondere Färbungsmethoden zur Anwendung gelangen. Die reife freie Spore weist im allge-

meinen keine Differenzierungen des Zellinhaltes auf, wenigstens konnten mit Sicherheit keine solchen aufgefunden werden. Wenn man von den Angaben über eine grüne Eigenfarbe der Sporen des sogenannten Kaul-

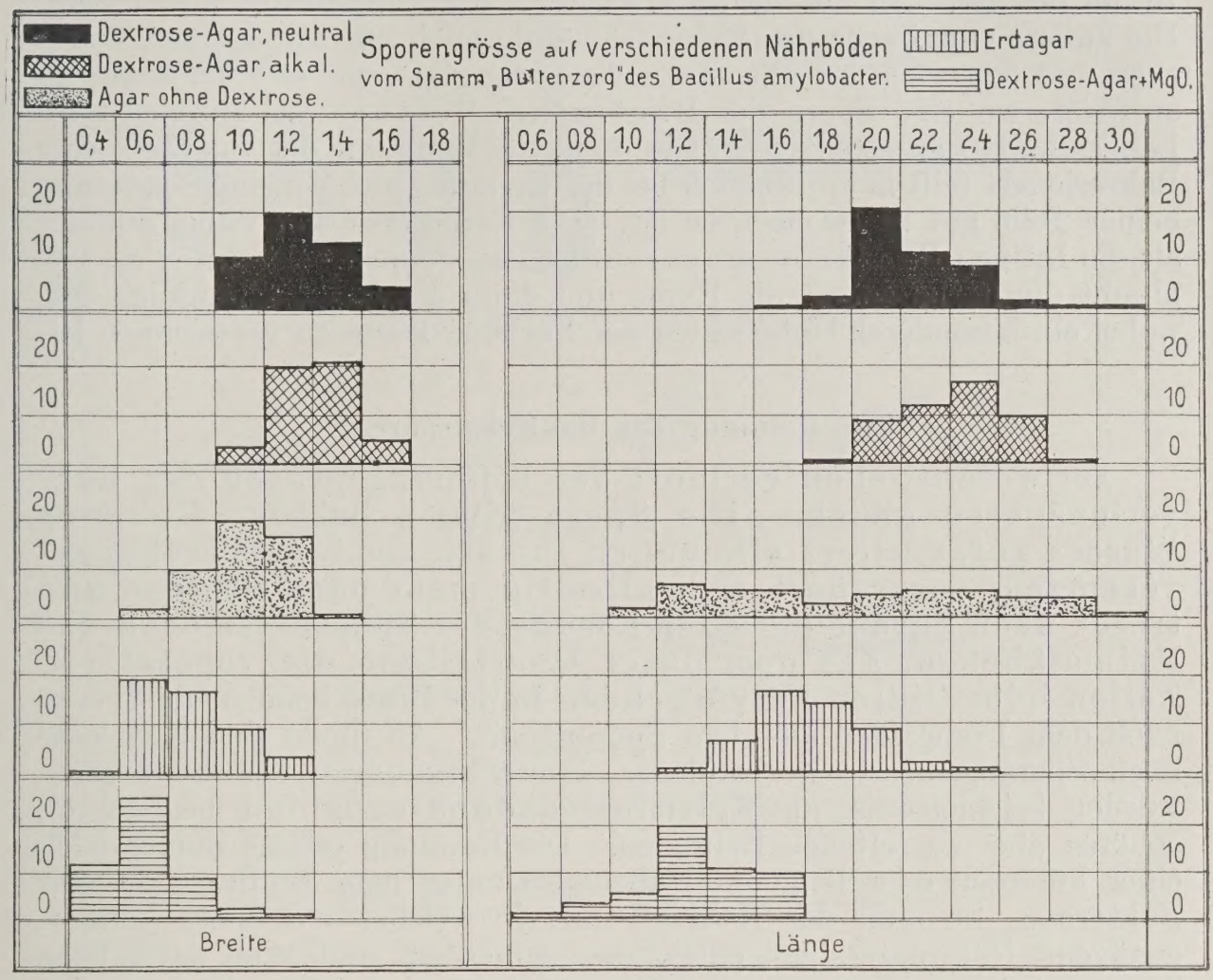


Fig. 45.

quappenbazillus und der grüenn Sumpfwasserbakterien absieht, können die Sporen als farblose Gebilde aufgefaßt werden, an denen etwa auftretende Farbenerscheinungen den Lichtbrechungserscheinungen zugeschrieben werden müssen. Der Protoplast zerdrückter Sporen nimmt Anilinfarben gut an.

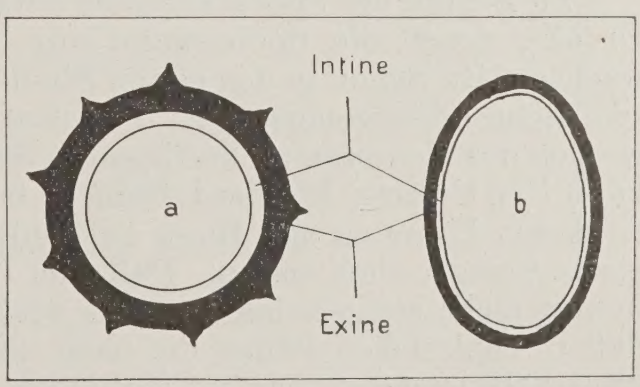


Fig. 46.

An der Membran der verschiedenen Sporen ist allerdings in einigen Fällen eine Struktur und Schichtung zu beobachten. Eine ganze Reihe von Bakterienarten bildet Sporen mit doppelter Wand. Die innere bezeichnet man als Intine, die äußere als Exine. Letztere weist noch häufig an der äußeren Seite Leisten, Zähnchen oder Wärzchen auf. Nach Artur Meyer zeigt die beiden Membranteile besonders gut die Spore des Bacillus asterosporus, an der Längsleisten ausgebildet sind, die

sehr oft noch feine Zähnchen aufweisen. In Figur 46 ist in *a* ein Querschnitt durch die Spore von Bacillus asterosporus schematisch abgebildet. Die mächtige Exine ist schwarz gehalten, während die zartere Intine hell ist. An der Exine erscheinen die Längsleisten als Höcker. Die äußere Oberfläche der Exine ist häufig auch nur mit kleinen Wärzchen und Körnchen besetzt oder vollständig glatt, wie es *b* der Figur 46 aufweist, wo eine Spore des Bacterium Petroselini Burchard im Längsschnitt dargestellt ist. Die doppelte Membran der Sporen dieser Bakterienart fällt hauptsächlich bei der Keimung auf, wo eine Sonderung beider Teile gut zu beobachten ist. Die Exine erscheint dabei dunkler als die Intine. Bei Färbungsversuchen an doppelt behäuteten Sporen nimmt die Farbe zuerst die Exine und dann die Intine allmählich auf, wobei ein besonderer Unterschied der Färbung kaum zu verzeichnen ist.

G. Keimung der Bakteriensporen.

Im wesentlichen verläuft der Keimungsprozeß der Bakteriensporen gleich. Die Spore nimmt bei der Keimung Wasser auf, verliert allmählich ihr starkes Lichtbrechungsvermögen, vergrößert sich allseitig mehr oder weniger und treibt nach Sprengung oder Lösung der Sporenmembran das Keimstäbchen, aus dem durch Querteilung die vegetativen Zellen oder Oidien hervorgehen. In der Regel keimen die Sporen nach dem Freiwerden aus dem Sporangium. An ihnen sind höchstens noch Sporangienreste vorhanden. Sporenkeimungen im Sporangium wurden beispielsweise am Spirillum endoparagogicum beobachtet, gehören aber zu seltenen Befunden. Die Keimung erfolgt immer nach einer kürzeren oder längeren Ruhepause unter dem Einflusse äußerer Faktoren. So muß das Nährsubstrat, in welches die Spore kommt, genügend Nährmaterialien enthalten. Außerdem muß eine zuträgliche Temperatur herrschen. Für den Eintritt der Keimung von höchster Bedeutung, vielleicht ausschlaggebend, sind die osmotischen Druckverhältnisse im Nährmittel. So kann eine erhöhte Kochsalzmenge selbst bei ungenügenden Nährböden eine Sporenkeimung einleiten, wie aus den Untersuchungen von Holzmüller zu entnehmen ist.

Zu Beginn der Sporenkeimung entstehen in der Spore sehr erhebliche Drucke, denen die Sporenwand nur bis zu einem gewissen Grade gewachsen ist. Schon in den ersten Stadien der Keimung schwellen die Sporen mehr oder weniger an. Gleichzeitig beobachtet man ein Dünnerwerden der Membran an bestimmten Stellen. Diese Membranverdünnung kann ihre Ursache in einer Lösung an bestimmten Stellen haben oder einer stärkeren Dehnung der Haut an denjenigen Stellen, die von vornherein etwas weniger dick waren. Daß eine Dehnung der Haut infolge des sich immer mehr steigernden Druckes zustandekommt, ersieht man daraus, daß in zahlreichen Fällen die nach der Keimung abgestreifte Membran unverhältnismäßig klein ist gegenüber der maximal angequollenen, aber noch geschlossenen Spore. Wahrscheinlich werden sehr oft beide Vorgänge, Lösung und Dehnung, nebenher gleichzeitig auftreten. Der Austritt des Keimstäbchens erfolgt demnach entweder nach Auflösung der Membran an einer Stelle der Spore oder nach einer Zerreißung der Sporenhaut. Diese Austrittsstellen sind nun für die einzelnen Bakte-

rienarten ziemlich konstant und können mit der nötigen Vorsicht systematische Verwendung zur Charakterisierung und Unterscheidung der Bakterienarten finden. Übrigens findet von außen her ebenfalls eine

Fig. 47.

Lockerung der Sporenmembran statt, da man die keimenden Sporen nie so scharf umrandet sieht als die ruhenden.

Nach der Lage der Austrittsöffnungen für das Keimstäbchen an der Spore unterscheidet man eine polare, äquatoriale und schräge Keimung. Dabei ist auf die Wachstumsrichtung des Keim-

stäbchens zur Sporenlängsachse keine Rücksicht genommen. Bei kugeligen Sporen fehlen naturgemäß diese Unterscheidungen, sofern nicht ein Durchreißen der Sporenmembran in einer durch die Kugelmitte gehenden Ebene erfolgt, so daß nach der Keimung zwei halbkugelige Sporenhautreste übrigbleiben. Die Wachstumsrichtung des Keimstäbchens muß bei der polaren Keimung immer mit der Längsachse der Sporen zusammenfallen. Bei der äquatorialen Keimung kann die Wachstumsrichtung des Keimstäbchens senkrecht zur Längsachse der Spore stehen oder aber in ihrem Verlauf liegen. Nach dem polaren Typus keimen die meisten Bakteriensporen, viel weniger nach dem äquatorialen und sehr wenige nur nach dem schrägen.

In der Figur 47 (Seite 71) sind Beispiele für die verschiedenen Keimungstypen zusammengestellt. Die Wachstumsrichtung der Keimstäbchen ist durch Pfeile angedeutet, während die Längsachse der Sporen seitlich durch eine gestrichelte Linie markiert ist.

Die Spore von Bacillus bütschlii keimt nach den Untersuchungen Schaudinns rein polar. Dabei findet schon im ersten Beginn der Keimung eine Lösung der Sporenmembran an einem Pole statt. Hier tritt dann das Keimstäbchen aus. Bei den Sporen des Bacillus amylobacter scheint ebenfalls eine Lösung der polaren Membranteile aufzutreten, vielleicht auch eine teilweise Zerreißung. Dasselbe gilt für den Bacillus bipolaris, dessen Sporen in der Weise keimen, daß in der Regel ein gleichzeitiger Austritt des Keimstäbchens an beiden Polen erfolgt. Bei der äquatorialen Keimung tritt ebenfalls zu Beginn des Vorganges eine Verdünnung der Sporenmembran am Äquator der Spore auf, wie es deutlich an den Sporen des Heubazillus zu bemerken ist. Hier bricht das Keimstäbchen durch, wobei allerdings ein Aufreißen der dünnen Membran erfolgt. Etwas Ähnliches geschieht auch beim Bacillus loxosporus, nur wächst das Keimstäbchen hier in der Längsachse der Spore aus, wie es durch den Pfeil und die gestrichelte Linie in der Figur 47 angedeutet ist. Für die schräge Keimung ist ein Beispiel die Spore des Bacillus loxosus. Bei ihr tritt das Keimstäbchen zwischen den Polen und dem Äquator aus. Die Wachstumsrichtung desselben bildet mit der Längsachse der Spore einen schiefen Winkel.

Beim ersten Anblick rätselhaft erscheint das Hervorgehen des Oidiums oder der vegetativen Form beim Bacillus leptosporus. Hier findet nur eine Verquellung der Spore bei der Keimung statt, wie es in der Figur 48 nach Migula wiedergegeben ist. Ohne merkbare Keimstäbchenbildung geht anscheinend die vegetative Form hervor. Es dürfte sich aber auch hier sicherlich um eine echte Keimung mit Keimstäbchenbildung handeln. Bei der Ausbildung des letzteren wird aber die Sporenwand allmählich gelöst. während das junge Stäbchen neubehäutet zum Vorschein kommt und sich weiterhin als die vegetative Form repräsentiert.

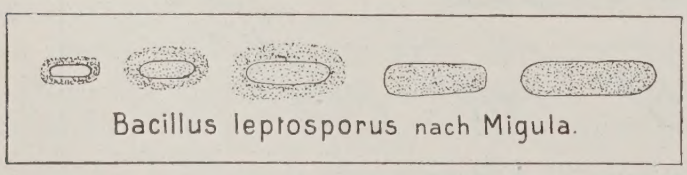


Fig. 48.

Die feineren morphologischen Erscheinungen bei Sporenkeimung sind bei den einzelnen Bakterienarten ziemlich gleich. Wie

schon gesagt, schwillt die Spore unter Wasseraufnahme an und verliert dabei ihr starkes Lichtbrechungsvermögen. In vielen Fällen findet zugleich eine Verdünnung der Sporenwand durch Lösung und Dehnung an bestimmten Stellen der Spore statt. Bei der weiteren allmählichen Vergrößerung der Spore tritt dort das Keimstäbchen aus. Das Plasma desselben ist häufig hyalin, wenig lichtbrechend oder sehr fein gekörnt. Nachdem das Keimstäbchen etwa die doppelte Bazillenlänge erreicht hat, wird die erste Querwand ausgebildet, und die beiden gleich großen Teilprodukte entsprechen bereits den Oidien oder vegetativen Formen. Die leeren Sporenhäute werden entweder in der Kultur rasch aufgelöst oder bleiben noch längere Zeit hindurch an einem oder den beiden ersten Oidien haften, Erscheinungen, die ebenfalls in der Figur 47 dargestellt sind. Die verschiedenen Plasmadifferenzierungen bilden sich am Keimstäbchen und den jungen Oidien ebenfalls schon sehr früh aus.

Am Schlusse der Besprechung der Sporenkeimung darf die sog. erschwerte Sporenkeimung nicht unerwähnt bleiben, die sich bei einigen Bakterienarten nur selten, bei anderen dagegen häufig einstellt. Sie findet sich bei der äquatorialen Keimung, wo also ein äquatorialer Riß für den Durchtritt des Keimstäbchens entsteht. Fällt die Wachstumsrichtung des letzteren nun mit der Sporenlängsachse zusammen, so wird der Druck beim Wachstum des Keimstäbchens auf die polaren, nicht verdünnten Zellwände ausgeübt. Reißt in der Folge die Sporenmembran am Äquator nur an einer Stelle ein, so wird sich dort der mittlere Teil des Keimstäbchens herausbiegen, während die Enden noch in den Polkappen sitzen. In Figur 49 sind diese Verhältnisse schematisch dargestellt. In *a* dieser Figur ist eine äquatorial keimende, bereits gequollene und unmittelbar vor dem Platzen stehende Spore abgebildet. Äquatorial ist die Sporenwand schon sehr dünn, während an den beiden Polen dieselbe sehr dick vorhanden ist. Die Wachstumsrichtung des noch eingeschlossenen Keimstäbchens stimmt mit der Sporenlängsachse überein, markiert durch die gestrichelte Linie. Der durch das wachsende Keimstäbchen hervorgebrachte Druck in der Spore steigt in der Folge immer mehr, und schließlich reißt die Sporenwand dort, wo sie am dünnsten ist, also am Äquator, ein. Durch die Rißstelle biegt sich nun die Längsseite des Keimstäbchens heraus, wie es *b* darstellt, während die beiden Enden desselben in zwei noch zusammenhaltenden Sporenmembranteilen gefangen bleiben. Das Keimstäbchen schiebt sich immer weiter heraus, wie es *c* zeigt, bis an der Umbiegungsstelle desselben eine Querwand entsprechend der punktierten Linie eingeschaltet wird und eine Teilung vollzogen ist, deren Produkte wir in *d* sehen. Es fallen in der Folge die an einem Pol wie Kappen noch sitzenden Membranreste ab und die weiteren Teilungen vollziehen sich glatt. In *e* derselben Figur ist wieder eine äquatorial keimende Spore vor dem Durchbruch des Keimstäbchens abgebildet; auch hier ist die Sporenwand am Äquator sehr verdünnt. Das Keimstäbchen wächst wieder in der Längsrichtung der Spore entsprechend

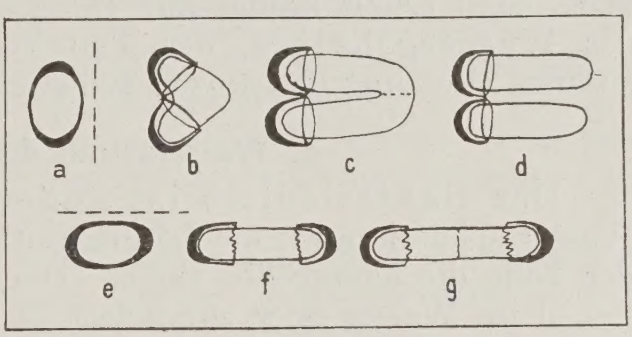


Fig. 49.

der gestrichelten Linie. Sobald der Innendruck eine Größe erreicht, der die verdünnte Wand nicht mehr zu widerstehen vermag, reißt in diesem Falle die Membran längs des ganzen Äquators durch. Es kann in diesem Falle nicht zu einer Krümmung des jungen Keimstäbchens kommen. Die beiden Sporenmembranreste sitzen einfach den Enden des Keimstäbchens an, wie es *f* zeigt. Später teilt sich das Stäbchen entsprechend *g*, und die Tochterzellen verlieren endlich die Sporenhautreste.

---

3. Chemie der Bakterienzelle.

Die chemische Erforschung des Bakterienleibes bietet dem Untersucher die allergrößten Schwierigkeiten, da nicht nur die Gewinnung des nötigen Materials für genaue quantitative Analysen durchaus nicht leicht, sondern auch die Reinigung desselben von den anhaftenden Nährbodenbestandteilen ohne Verluste an Zellbestandteilen sozusagen unmöglich ist. Außerdem ist die Zusammensetzung der Bakterien von ihrem Alter und ihrem momentanen Entwicklungszustand abhängig. Deshalb ist es für die exakte chemische Erforschung äußerst notwendig, möglichst gleichaltrige Individuen zur Analyse heranzuziehen. Dieser Forderung können aber die makrochemischen Methoden nur wenig gerecht werden. Selbst die zwischen den Makro- und Mikromethoden liegenden Arbeitsweisen leiden teilweise unter der gleichen Schwierigkeit. Man erhält immer nur Durchschnittswerte, die aber hinsichtlich des Wassergehaltes, der Trockensubstanz und der Elementarzusammensetzung der ganzen Zellen einen wertvollen Einblick gewähren.

A. Wassergehalt der Bakterienzelle.

Der Bakterienleib ist außerordentlich wasserreich. Das Wasser spielt ja auch als Lösungsmittel für die Bau- und Betriebsstoffe der Zelle die allergrößte Rolle. Die Bakterien sind überhaupt für ein Leben im Wasser oder zumindest in sehr wasserreichen Substraten besonders angepaßt, was sich naturgemäß auch in einem größeren Wasserreichtum des Zytoplasmas und der Zellwand widerspiegeln muß. Der Wassergehalt der einzelnen Bakterienarten zeigt gewöhnlich nur geringe Unterschiede, wie aus den wenigen älteren und neueren Bestimmungen zu entnehmen ist. In der folgenden Tabelle ist darüber eine Reihe von Daten zusammengestellt.

Schon aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß der Wassergehalt der Bakterien ein sehr hoher ist. Im allgemeinen fällt er mit zunehmendem Alter der Kultur. Aber auch bei einer und derselben Art schwankt derselbe bei Anwendung verschiedener Kulturbedingungen.

Über den Wassergehalt von Sporen liegen nur wenige Bestimmungen vor. Dyrmont hat denselben von Milzbrandsporen mit 85,4% festgestellt. Diese Angabe dürfte kaum der Wirklichkeit entsprechen, da die in den zerfallenen und stark verquollenen Resten des Sporangiums eingebetteten Sporen gewiß nicht allein zur Bestimmung gekommen und gerade die Nebenbestandteile ganz besonders wasserreich sind. Nach den Bestimmungen des spezifischen Gewichtes, die Almquist mit den Heubazillensporen machte, ist ein sehr viel geringerer Wassergehalt der Dauerformen anzunehmen.

Bakterienart	Wassergehalt in %	Autor
Fäulnisbakterien in verschiedenem Alter . . .	84,81	
	84,26	Schaffer
	83,42	
Bacillus prodigiosus	85,45	Krappes
Bacillus xerosis	84,93	
Bacterium pneumoniae	84,20	Brieger
Proteusbakterien	83,60	Rubner
Milzbrandbakterien	80,00	Dyrmont
Tuberkulosebakterien	74,00—88,80	Hammerschlag
Bacterium mallei	76,5	
Choleravibrionen	73,4	
Proteus vulgaris	80,0	
Bacterium pneumoniae	85,5	Nicolle und
Bacillus prodigiosus	78,0	Alilaire, 1909.
Bacillus pyocyaneus	75,0	
Bacterium coli	73,3	
Bacterium dysenteriae	87,2	
Bacterium anthracis	81,7	

B. Trockensubstanz der Bakterienzelle.

Die Trockensubstanz der Bakterien setzt sich aus einem organischen und anorganischen oder mineralischen Anteile zusammen. Sowohl das Mengenverhältnis als auch die Zusammensetzung beider Anteile weisen bei den verschiedenen Bakterien Unterschiede auf. Die gesamte Trockensubstanz, also organischer und mineralischer Teil, ist ebenfalls sowohl bei den einzelnen Bakterienarten als auch bei einer und derselben Art verschieden. Im letzteren Falle gehen die Unterschiede in erster Linie auf die Zusammensetzung des verwendeten Nährbodens zurück. Anderseits verursachen Verschiedenheiten die Züchtungsdauer, also das Alter der zur Untersuchung verwendeten Kulturen und die Züchtungstemperatur.

Cramer stellte diesbezügliche Untersuchungen mit dem Bacillus prodigiosus, einer weitverbreiteten kurzen Stäbchenbakterie, an, die auch unter dem Namen Wunderblutbazillus bekannt ist.

Bei gleicher Temperatur und Züchtungsdauer erhält man recht verschiedene Werte für die Trockensubstanz bei Verwendung verschiedener Nährsubstrate, wie beispielsweise gelben Rüben und Kartoffeln. Das Mengenverhältnis zwischen organischen und anorganischen Anteilen in der Trockensubstanz wird durch dieselben Umstände ebenfalls wesentlich beeinflußt.

Die folgende Tabelle zeigt dies hinsichtlich des Nährbodens, der Züchtungstemperatur und des Alters der Kultur sehr deutlich.

Bacillus prodigiosus.

Nährboden	Alter der Kultur	Züchtungstemperatur	Trockensubstanz in % des Frischgewichtes	Organische Substanz i.% der Trockensubstanz	Mineralische Substanz i.% der Trockensubstanz
Kartoffel . . .		20° C	21,49	87,14	12,86
Gelbe Rübe . .		20° C	12,58	88,78	11,12
Kartoffel . . .		20° C	20,98	87,48	12,52
Kartoffel . . .		33° C	24,17	90,69	9,31
Kartoffel . . .	4—6 Tage	20° C	20,98	87,48	12,52
Kartoffel . . .	13—16 Tage	20° C	17,45	86,33	13,77

Aus den Untersuchungen von Cramer ist zu entnehmen, daß die Zucht dieser Bakterienart auf der gelben Rübe die Menge der Trockensubstanz fast auf die Hälfte herunterdrückt gegenüber der bei der Züchtung auf Kartoffeln erhaltenen Menge. Vergleicht man den Wassergehalt beider Nährsubstrate, so findet man für die Kartoffel einen solchen von 75% im Mittel, für die gelbe Rübe einen solchen von 87% im Mittel. Es liegt der Gedanke nahe, mit einer gewissen Berechtigung den Schluß zu ziehen, daß diese Bakterien und vielleicht die Bakterien überhaupt bei vermehrtem Wassergehalt des Nährsubstrates eine Verminderung ihrer Trockensubstanz erfahren.

Weiter ist ersichtlich, daß eine erhöhte Züchtungstemperatur ebenfalls zu einer Zunahme der Trockensubstanz führt, während eine verlängerte Züchtungsdauer dieselbe herabsetzt.

1. Die mineralische Trockensubstanz.

a) Menge.

Die mineralische Trockensubstanz oder der Aschegehalt der Bakterien ist verschieden bei verschiedenen Arten und schwankt bei den Kulturen einer und derselben Art. Der Aschegehalt ist hauptsächlich abhängig von demjenigen des Nährsubstrates, wie folgende aus Krauses Mikrobiologie entnommenen Zahlen nach den Untersuchungen Cramers an Choleravibrionen es dartun:

	Soda-Bouillon	Phosphat-Bouillon	NaCl-Bouillon
Aschegehalt der Bakterien in der Trockensubstanz .	9,3%	22,3%	25,9%
Aschegehalt in der feuchten Bakterienmasse . . .	1,34%	2,75%	3,73%
Aschegehalt des Nährbodens	1,25%	2,50%	4,12%

Man sieht sofort, daß mit steigendem Aschegehalt des Nährsubstrates auch ein Ansteigen des Aschegehaltes der darin wachsenden Bakterien sich einstellt. Die Zunahme der Asche erfolgt bei diesem Beispiel fast streng gesetzmäßig mit derjenigen der Asche des Nährbodens.

Im allgemeinen ist der Aschegehalt der Bakterientrockensubstanz keine konstante Größe. So finden wir nach den Angaben von Hammerschlag für Tuberkulosebakterien einen Aschegehalt von 8%, nach denjenigen von Schweinitz und Dorset einen solchen von nur 1,77 bis 1,92%. Cramer gibt für Choleravibrionen einen Aschegehalt von 8—30% der Trockensubstanz an, wozu allerdings bemerkt sein muß, daß dieselben auf verschiedenen oben genannten Fleischbrühen gezüchtet worden waren. Nach Kappes hat die Trockensubstanz von Bacillus prodigiosus 13,47% und diejenige des Bacillus xerosis 9,52% Asche.

b) Zusammensetzung.

Aus den vorliegenden Aschenanalysen entnehmen wir, daß die Bakterienasche vornehmlich Phosphor und Kalium enthält, dann in geringerer Menge bis in Spuren Calcium, Magnesium, Silicium, Eisen, Mangan, Aluminium, Jod, Chlor und Schwefel. Daß der Schwefel beim Glühen der Asche unter Gegenwart der großen Phosphorsäuremengen in der Asche ganz verschwindet oder sehr zurück-

tritt, darf ja nicht wundernehmen, da er dabei eben als freie Säure weggeht. Aus diesem Schwefelmangel der Asche darf keineswegs das Fehlen desselben im lebenden Bakterienorganismus geschlossen werden.

Die Schwefelbakterien enthalten natürlich große Mengen von Schwefel. Der Natriumgehalt ist ebenfalls großen Schwankungen unterworfen und wird naturgemäß in den Seewasser bewohnenden Bakterien größer sein als in den Bakterien, die in ihrem Nährsubstrat nur wenig Natriumverbindungen enthalten. Der Eisengehalt ist gewöhnlich sehr gering und steigt nur bei den sogenannten „Eisenbakterien" beträchtlich an, da diese Scheidenbakterien in ihren Scheiden große Eisenmengen speichern. Das gleiche gilt für Mangan, welches bei den Eisenbakterien bis zu einem gewissen Grade ebenso gespeichert wird wie das Eisen. In diesem Falle werden dafür auch hohe Werte auftreten, während sich sonst Mangan nur in Spuren findet. Jod wurde nur einmal beim Tetanusbazillus von Gautier in äußerst geringen Mengen nachgewiesen und findet sich auch in den Bakterien des Meeres.

Die folgende Zusammenstellung der Ascheanalysen von Bakterien nach den Untersuchungen von Kappes, Schweinitz und Dorset, Romegialli und Cramer gibt einen Überblick über die Zusammensetzung der Asche verschiedener Bakterien.

Bakterienart	In Prozenten der Trockensubstanz								
	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	F_2O_3	SiO_2	SO_3	P_2O_5	Cl
Bacterium aceti .	25,59	—	14,00	0,70	8,15	7,76	7,64	18,14	2,29
Bacillus prodigiosus	11,50	28,00	4,00	7,00	—	0,50	—	38,01	5,00
Bacillus xerosis . .	11,10	24,00	3,00	6,00	—	0,50	—	34,45	0,60
Choleravibrio . . .	4—6	27—34	0,3—1,3	0,1—0,6	—	—	1—8	10—45	5—44
Tuberkulosebakter.	6,4	13,6	12,6	11,6	0,006—0,008	0,6	—	55,2	—

Aus der Tabelle geht auch hervor, daß die Menge gewisser Elemente sehr großen Schwankungen unterliegt, wie es beispielsweise an dem vieluntersuchten Objekt Choleravibrio unter anderem ersichtlich ist. Auch für diese Schwankungen ist sicherlich der Gehalt des Nährsubstrates an den betreffenden Verbindungen von einschneidender Bedeutung und die Durchlässigkeit des Plasmas für dieselben. Dies zeigt sich z. B. für die Chlor- und Phosphorverbindungen, wie nachstehende kleine Zusammenstellung nach Kruses Mikrobiologie dartut.

Bei einem Chlorgehalt der Asche des Nährbodens von 23,0%, 11,4% und 49,2% ergab sich für die Asche der Choleravibrionen ein Chlorgehalt von 16,9%, 7,97% und 40,7%.

Eine so schöne Übereinstimmung, wie wir sie oben bei der Trockensubstanzmenge gefunden haben, herrscht hier aber nicht mehr. Noch weniger übereinstimmend sind die Daten bezüglich des Phosphorsäuregehaltes der Cholerabakterienasche bei Nährsubstraten mit verschiedenem P_2O_5-Gehalt.

Es ergaben sich folgende Werte dafür:

Bei einem Phosphorsäuregehalt der Asche
der Nährbouillon von . . . . . 7,9%, 39,8% und 2,1%
enthielt die Bakterienasche . . . . . 28,7%, 38,4% und 10,9%.

2. Die organische Trockensubstanz.

Die Hauptmenge der organischen Trockensubstanz bilden die Eiweißkörper und ihnen nahestehende Verbindungen, dann Kohlehydrate und Fette, bzw. Lipoide. Die Verteilung dieser Gruppen organischer Verbindungen ist nun bei den Bakterien sehr verschieden und unterliegt großen Schwankungen bei einer und derselben Art wegen der großen Anpassungsfähigkeit dieser Organismen an das Nährsubstrat.

Einen Überblick über die vorhandenen Mengen von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff geben uns Elementaranalysen von Bakterien, die von einigen Forschern ausgeführt wurden. So ergab sich nach den Untersuchungen von Nenski und Schaffer an Fäulnisbakterien ein Gehalt von 53,1—53,8% C, 7,8% H und 13,8—14,3% N für die fett- und aschefreie Trockensubstanz. Nach Cramers Elementaranalysen von verschiedenen Bakterienarten beträgt, auf aschefreie Trockensubstanz berechnet, die C-Menge 48,9—51,8%, die H-Menge 6,5—7,5% und die N-Menge 9,4—15,0%. Nach den Untersuchungen Kutschers entfallen auf die fettfreie Trockensubstanz mit 2,6% Asche 50,18% C, 7,33% H und 9,87% N.

Über den Stickstoffgehalt der Bakterien liegen noch zahlreichere Angaben vor, von denen die neueren nach den Analysen von Nicolle und Alilaire hier teilweise wiedergegeben sind. Danach beträgt der Stickstoffgehalt in Prozenten der Trockensubstanz bei dem Rotzbakterium 10,5; Cholerabakterium 9,8; Proteus vulgaris 10,7; Bacillus coli 8,3; Bacillus prodigiosus 10,5; Bacterium pneumoniae 10,4; Bacillus typhi 8,3; Bacillus pyocyaneus 9,8.

Aus diesen Zahlen unmittelbar den Eiweißgehalt der Bakterien durch die übliche Multiplikation mit dem Faktor 6,25 zu bestimmen, führt sicherlich zu Fehlresultaten, da die erhaltenen Werte entschieden zu hoch ausfallen. Es wird dabei eine Reihe stickstoffhaltiger Reservestoffe und Zellwandstoffe vernachlässigt, die aber berücksichtigt werden müssen. Aus diesem Grunde sind die meisten alten Analysendaten über die Menge der Eiweißstoffe von Bakterien nicht vollständig genau und nur unter Berücksichtigung dieses Fehlers zu gebrauchen.

Auch die Menge der Kohlehydrate schwankt bei den einzelnen Bakterienarten sehr bedeutend. Dies ist wohl einzusehen, da ja dieselben als Reservestoffe in sehr verschiedener Menge in der Bakterienzelle gespeichert werden, wie schon bei der Besprechung der geformten Einschlüsse des Protoplasmas zur Genüge dargetan worden war. Das gleiche gilt für die in den meisten Bakterien in gewissen Entwicklungszuständen und auch beim Absterben auftretenden Fettsubstanzen, die keineswegs einheitlicher Natur sind. Auch die Menge der in Bakterien nachgewiesenen höheren Alkohole ist sehr verschieden.

Die die Bakterienzelle zusammensetzenden organischen Verbindungen verteilen sich nun auf die Zellwand und das Zellinnere.

a) Chemie der Bakterienzellwand.

Es war naheliegend, in früheren Zeiten die Bakterienwand entsprechend den Befunden an den Membranen der höheren Pflanzen, als aus Zellulose gebildet, anzusehen. Die eingehenderen Untersuchungen haben aber gezeigt, daß sich echte Zellulose in den Zellwänden der

Bakterien, wenn überhaupt, nur in den seltensten Fällen findet. Wir haben es hier im allgemeinen mit komplizierten Körpern zu tun, die in den meisten Fällen auch Stickstoff enthalten.

Ganz allgemein gesprochen, besteht die Wand der Bakterien in der Regel aus stickstoffreien und stickstoffhaltigen Membranstoffen.

Von den stickstoffreien Membranstoffen kommt die sonst im Pflanzenreiche weit verbreitete Zellulose kaum in Frage. Findet man doch nur wenige Angaben über einen Zellulosenachweis bei einigen Bakterien, der aber auch nur zuweilen gelingt.

Eine Essigbakterie, Bacterium xylinum, die kolossale Häute in Flüssigkeiten ausbildet, soll aus echter Zellulose aufgebaute Zellwände besitzen. Mit Recht bezweifelt man aber das Vorhandensein derselben, da die Zellwände dieser Bakterienart sehr zur Verschleimung neigen, was bei echter Zellulose nicht der Fall ist. Außerdem ist die Wand von Bacterium xylinum in Kupferoxydammoniak nicht löslich, aber langsam löslich in erwärmter konzentrierter Salzsäure, was darauf hindeutet, daß es sich in der Zellwand von Bacterium xylinum um eine Hemizellulose handelt.

Hemizellulosen und Membranstoffe finden sich in der Zellwand der Bakterien sehr häufig. Außerdem findet man weit verbreitet in der Bakterienzellwand fadenziehende Schleimstoffe, die oft in großen Massen abgeschieden werden und wohl immer als von der Zellwand entstanden anzusehen sind.

Die meisten näher untersuchten Bakterienwandschleime entsprechen der allgemeinen Formel $C_6H_{10}O_5$. Es gilt dies besonders für die von Harp untersuchten Schleimbakterien Bacillus gummosus und Micrococcus gummosus, deren Wand eine in Wasser lösliche Gummose ausscheidet. Auch der von Cramer untersuchte Bacillus viscosus sacchari und Bacillus viscosus vini bildet Schleimmassen derselben Zusammensetzung. Die fadenziehenden Schleime scheinen außerdem noch muzinartige Körper zu enthalten.

Genauere Untersuchungen liegen unter anderem über die Gallerte des Leuconostoc mesenterioides vor, aus denen hervorgeht, daß diese Dextran enthält, einen Körper, den auch Anderlik in der Gallerte eines anderen in der Zuckerfabrikation auftretenden Bakteriums fand.

Schardinger untersuchte den Schleim eines Rohrzucker vergärenden Bazillus. Nach der Verzuckerung desselben durch Kochen mit Salzsäure entstand eine stark reduzierende Lösung, die bei der quantitativen Zuckerbestimmung nach Allihn eine 79,6% Galaktose oder 71,6% Galaktan entsprechende Kupfermenge ergab. Ein aus diesem Schleim gewonnenes Kohlehydrat ergab in der Elementaranalyse für die Formel $C_6H_{10}O_5$ berechnet: H = 6,17 und C = 44,44. Dieses Kohlehydrat zerfiel bei der Oxydation durch Salpetersäure in Schleimsäure und Oxalsäure. Beim Kochen mit Salzsäure entsteht ein stark CuO reduzierender Zucker, der polarisiertes Licht nach rechts dreht. Es ist der Schluß berechtigt, daß in diesem Kohlehydrat ein Galaktan vorliegt. Die fadenziehende Beschaffenheit des ursprünglichen Schleimes ist wohl auf die gleichzeitige Anwesenheit muzinartiger Körper zurückzuführen.

Die meisten Untersuchungen von Bakterienzellwänden ergaben die Anwesenheit von Stickstoffverbindungen in denselben,

die aber höchstens zum kleinen Zeil eiweißartiger Natur sind; denn mit keinem Reinigungsmittel gelang es, den Stickstoff zu entfernen. Der stickstoffhaltige Membranstoff steht dem Chitin außerordentlich nahe. Letzteres bildet bekanntlich die harten Teile der Insekten, Spinnen und Krebse. Emmerling hat einen dem Chitin außerordentlich nahestehenden Körper tatsächlich in den Wänden des Bacterium xylinum nachgewiesen. Auch die erhaltenen Stickstoffwerte der Zellmembran anderer Bakterien lassen auf einen Chitingehalt schließen.

Die von Iwanoff untersuchten Membranen des Bacillus pyocyaneus, Bacillus megatherium und Bacterium anthracis ergeben allerdings zu hohe Stickstoffwerte, weshalb auch die Anwesenheit geringer Mengen von Eiweißkörpern in der Zellhaut zahlreicher Bakterien mit Sicherheit anzunehmen ist.

Wenn wir in aller Kürze die Daten über die chemische Zusammensetzung der Bakterienzellhäute zusammenfassen, so finden wir in denselben in der Hauptmenge:

1. N-freie Membranstoffe	2. N-haltige Membranstoffe
(Zellulose?) Hemizellulosen, Dextran, Galaktan.	Chitinartige Körper, eiweißartige Körper, muzinartige Körper.

Über die Zusammensetzung der Sporenmembranen sind wir derzeit nicht unterrichtet. Anhangsweise sei auch erwähnt, daß sich in den Zellmembranen der Bakterien sicherlich noch eine Reihe anderer Körper findet, wie hauptsächlich fettartige und wachsartige Stoffe, was besonders für die Sporenmembran gilt.

b) Chemie des Zellinnern.

Das Zellinnere setzen in erster Linie Eiweißkörper und ihnen nahestehende Verbindungen zusammen, die eben das lebende Protoplasma bilden. Die makrochemische Erforschung des Zellinnern bietet die allergrößten Schwierigkeiten aus den schon früher mehrfach erwähnten Gründen. Man ist daher auch heute noch über den chemischen Aufbau des Zytoplasmas nur äußerst mangelhaft orientiert und den verschiedenen diesbezüglichen Untersuchungen und Analysenergebnissen darf keine allzu große Bedeutung beigemessen werden. Das Zellinnere beherbergt dann noch Kohlehydrate und Fette und endlich eine Reihe von äußerst wirksamen Stoffen, deren chemische Zusammensetzung auch heute noch nicht bekannt ist. Unter ihnen spielen die Fermente oder Enzyme für den Zellhaushalt die allergrößte Rolle.

Schon im Jahre 1884 haben Vandevelde im Bacillus subtilis und Nencki im Bacterium anthracis (Milzbrandbakterium) Nuklein gefunden. Später wurden Nukleinverbindungen von anderen Forschern in Bakterien makrochemisch und mikrochemisch nachgewiesen.

Dabei müssen wir aber die echten Nukleinverbindungen von denjenigen Körpern unterscheiden, die zwar auch einen Phosphorgehalt aufweisen und von Hammarsten als Pseudonukleine, von Kossel als Paranukleine und in der Folge einfach als Nucleoalbumine bezeichnet worden waren. Alle echten Nukleinverbindungen sind dadurch charakterisiert, daß sich „Nukleinsäure“ abspalten läßt: Nukleinsäure ist ein Sammelbegriff, der, entsprechend

der Herkunft, ziemlich verschiedene Körper umfaßt, die aber alle durch einen hohen Stickstoff- und Phosphorgehalt ausgezeichnet sind. Die Pseudonukleine, die Cohnheim unter dem Namen „Phosphoglobuline" zusammenfaßt, zeigen ausgesprochene sauere Eigenschaften und werden bei der Säurehydrolyse in Eiweißkörper und Phosphorsäure zerlegt.

Echte Nukleinverbindungen und Nukleinsäure wurde bereits in zahlreichen Bakterien nachgewiesen und in einigen Fällen quantitativ bestimmt. Einige Beispiele sollen diese Verhältnisse illustrieren.

So fand Nishimura in Wasserbazillen eine Reihe von Xanthinbasen, die sich in der Trockensubstanz prozentisch folgendermaßen verteilten: 0,07% Xanthin, 0,14% Guanin und 0,08% Adenin. Hopoxanthin war nicht vorhanden.

Galeotti stellte aus Pestbakterien ein Nukleoproteid dar, das Guanin enthielt, und aus einem dem Ernstschen Bacillus ranicida nahestehenden Bakterium ebenfalls ein Nukleoproteid mit einem N-Gehalt von 12 und Phosphorgehalt von 1—1,8%.

Kresling wies in Rotzbakterien ebenfalls Guanin und Xanthin nach.

Aronson analysierte Diphtheriekulturen und erhielt daraus Nukleoproteide, die Xanthinbasen und Pentosen abspalten ließen, und wenig Nukleinsäure, die als Zersetzungsprodukte Xanthinbasen, Pentosen und Phosphorsäure ergab.

Iwanoff erhielt aus dem Bacillus pyocyaneus, megatherium und Bacterium anthracis auch Nukleoproteide.

Stoklasa zerlegte die Zellen von dem Stickstoffbinder Azotobacter chroococcum durch Magensaft, also Pepsinverdauung, und erhielt 20% verdauliches Eiweiß und 80% unverdauliche Nukleine mit einem Stickstoffgehalt von 15,8% und einem Phosphorgehalt von 3,9%.

Sehr eingehende Untersuchungen über die Nukleinverbindungen des Tuberkulosebakteriums verdanken wir unter anderem Ruppel. Er stellte daraus die „Tuberkulinsäure" dar, die einer Nukleinsäure mit 9,4% Phosphor entspricht. Außerdem erhielt er noch Nukleoprotamin und Nukleoproteid. Der Menge nach verteilten sich diese Körper in 100 g der Trockensubstanz des Tuberkulosebakteriums folgendermaßen:

Tuberkulinsäure 8,5 g; Nukleoprotamin 24,5 g; Nukleoproteid 23,0 g.

Auch Pseudonukleine finden sich in den Bakterienzellen, wie die zahlreichen Angaben es dartun. So konnte Palladino-Blandini im Typhusbazillus ein Nukleoalbumin nachweisen. Kürzlich wurde von Nicolle und Alilaire aus Tuberkelbakterien ein „Bacillokasein" gewonnen. Auch bei vielen anderen Analysen finden wir Körper, die sicherlich zu den Phosphoglobulinen Cohnheims zu rechnen sind.

Was die Lokalisation der Nukleine in der Bakterienzelle anlangt, so werden sie auch hier wie überall vornehmlich in den Kernen sitzen. Gewiß enthalten viele der sogenannten metachromatischen Körnchen echtes Nuklein oder bestehen unmittelbar aus Nukleinsäure, wie aus den Untersuchungen Arthur Meyers zu schließen ist.

Sicherlich ist aber ein großer Teil derselben in die Gruppe der Phosphoglobuline und anderer eiweißartiger Körper zu stellen.

Neben den Nukleinen ist noch eine Reihe von Eiweißkörpern am Aufbau des lebenden Plasmas beteiligt. Dieselben zeigen einen sehr niedrigen oder gar keinen Phosphorgehalt und sind schwefelhaltig. Besondere Aufgaben darüber finden wir für die Bakterien nur selten. Erwähnt sei hier das Tuberkulosamin Ruppels. Außerdem werden sich in der Bakterienzelle sicherlich auch Vorstufen von Eiweißkörpern und Abbauprodukte derselben finden, vornehmlich Peptone, Albumosen und Aminosäuren.

Außerdem finden sich in der Bakterienzelle noch andere stickstoffhaltige Verbindungen, wie Albuminoide, Keratin u. dgl., wie es Ruppel im Tuberkulosebakterium nachwies.

3. Kohlehydrate.

Es findet sich regelmäßig in der Bakterienzelle eine Reihe von Kohlehydraten, die im Haushalt der Zelle von großer Bedeutung sind.

Die meisten Bakterien führen Glykogen, das dem tierischen Glykogen sehr nahe steht. Eine große Anzahl Bakterien hat auch im Innern der Zelle stärkeähnliche Kohlehydrate und höchst wahrscheinlich auch einfachere Zucker. Letztere werden allerdings nicht gespeichert.

4. Fett.

Weiter enthalten die Bakterien fast immer größere oder geringere Mengen von Fett und wachsartigen Stoffen, die besonders am Tuberkulosebakterium eingehend untersucht sind, und außerdem Cholesterin und Lecithin.

Die Fette der einzelnen Bakterienarten sind ziemlich verschieden zusammengesetzt und besitzen auch sehr verschiedene Schmelzpunkte, was auf den verschiedenen Gehalt an Fettsäuren und Fettsäureestern zurückzuführen ist. Eine sehr ausführliche Analyse des Tuberkulosebakterienfettes liegt von Kresling vor, nach der dieses Fett eine ganz eigenartige Substanz ist. Es dürfte sich um ein Gemisch sehr komplizierter Natur handeln, das im wesentlichen aus Neutralfetten, freien Fettsäuren, Fettsäureestern und höheren Alkoholen, wie Cholesterin und Lezithin, besteht. Außerdem enthält es noch eine größere Menge von wasserunlöslichen Extraktionsstoffen.

Ruppel fand in den Tuberkulosebakterien drei Arten von Fettstoffen. Der erste Fettkörper ist rot gefärbt und enthält viel freie Fettsäuren. Sein Schmelzpunkt liegt bei 55—60° C. Der zweite ist wachsartig, schmilzt bei 65° und ist nur schlecht verseifbar. Das dritte Fett besitzt einen bienenwachsähnlichen Geruch, ist auch sonst wachsartig und hat einen bei 65—70° liegenden Schmelzpunkt.

Nach den Untersuchungen Baudrans enthält die Trockensubstanz der Tuberkulosebakterien im ganzen 36—44% Fettstoffe, die sich mit den höheren Alkoholen folgendermaßen aufteilen lassen:

Cholesterin	5— 7%	der Trockensubstanz.
Lezithin	6— 7%	
Olein	10—12%	
Stearin	15—18%	

5. Enzyme (Fermente).

a) Allgemeines.

Unter Enzymen oder Fermenten verstehen wir eine von einer lebenden Zelle gebildete Substanz, die, ohne in das Endprodukt der Reaktion selbst einzutreten, die Geschwindigkeit derselben vergrößert oder gegebenenfalls verkleinert, also ändert. Dabei vollzieht sich diese Wirkung ohne irgendwelchen Einfluß von seiten der Lebensvorgänge der Zelle selbst. Damit sind die Enzyme in die Kategorie der Katalysatoren eingereiht oder vielleicht denselben untergeordnet.

Kein Enzym wurde bisher als chemisches Individuum rein dargestellt oder gewonnen. Aus allen ihren Wirkungen und ihrem Auftreten ist aber der Schluß berechtigt, daß sie kolloidale Natur besitzen. In dieser Hinsicht haben sie gemeinsame Eigenschaften mit Eiweißkörpern, ohne selbst solche zu sein. Je reiner sie in der Tat hergestellt werden, um so mehr verlieren sie die Eigenschaften echter Eiweißkörper und geben dann auch keine Eiweißreaktionen mehr.

Mit Ausnahme der echten Lipasen sind alle Enzyme in Wasser sehr leicht löslich und leicht löslich in sehr verdünnten Salzlösungen. Es handelt sich hier um Scheinlösungen eines Emulsionskolloides. Die Enzyme werden durch starken Alkohol, wenn auch nicht quantitativ, gefällt. Auch Ammonsulfat fällt in gesättigter Lösung die Enzyme. Feine Niederschläge und Eiweißfällungen usw. reißen die Enzyme ebenfalls mit.

Die Enzyme werden bei der Dialyse teils zurückgehalten, teils gehen sie durch die Membranen hindurch. Von großem Einfluß auf die Durchlässigkeit ist die Membran. In dieser Hinsicht verhalten sich die Enzyme aber sehr verschieden.

Alle Enzyme besitzen in hohem Grade die Fähigkeit, sich an feste Körper zu binden oder zu adsorbieren. Hier ist nun eine Adsorption auf mechanischem Wege anzunehmen und eine solche infolge eines bestimmten elektrischen Ladungssinnes. Vielfach werden beide Ursachen zusammenwirken, wie beispielsweise bei der Adsorption der Enzyme an Kohleteilchen. Die Beeinflussung der Adsorption durch den elektrischen Ladungszustand sehen wir sehr schön, wenn wir als Adsorbens Kaolin und Tonerde verwenden. An dem anodisch wandernden Kaolin werden nur Basen, an der kathodisch wandernden Tonerde nur Säuren gebunden. Das Enzym „Invertase“ wird nun nur von der Tonerde gebunden, einerlei, welche Reaktion das Lösungsmittel aufweist, vom Kaolin aber niemals. Es besitzt dieses Enzym also einen ausgesprochenen Säurecharakter. Anders liegt die Sache bei den meisten anderen Enzymen, die bei dieser Prüfung einen amphoteren Charakter aufweisen, wie die Eiweißkörper. Bei ihnen wechselt die Adsorption mit der Reaktion des Lösungsmittels.

Entsprechend der Definition der Enzyme haben wir ihre Wirkung als katalytisch anzusehen. Die Gesetze, nach denen diese erfolgt, decken sich auch mit jenen, die wir von den Katalysatoren kennen. Allen katalytischen Vorgängen ist die Eigentümlichkeit gemein, daß spontan verlaufende Reaktionen durch Zutun eines Katalysators in ihrer Geschwindigkeit eine Änderung erfahren. Es wird also die Re-

aktionsgeschwindigkeit geändert, entweder beschleunigt oder verzögert. Bei den Enzymen tritt die Beschleunigung oder positive Katalyse in den Vordergrund. Weder das Enzym noch der Katalysator sind dabei an eines der entstehenden Endprodukte gebunden.

Die Enzyme vermögen ebensowenig eine Reaktion auszulösen wie die Katalysatoren. Sie ändern, wie schon gesagt, nur die Reaktionsgeschwindigkeit von freiwillig in Gang befindlichen Reaktionen, die ohne ihr Zutun in vielen Fällen in fast unmeßbar langer Zeit einen Endzustand erreichen würden. Niemals führen Enzyme einer Reaktion Energie zu.

Nach van t'Hoff können aber nur solche Vorgänge freiwillig eintreten, bei denen Arbeit geleistet wird. Auch nur sie können deshalb enzymatisch bzw. katalytisch beschleunigt werden. Im allgemeinen wird bei allen exothermisch verlaufenden Prozessen Arbeit geleistet. doch wurden auch endothermisch verlaufende Vorgänge bekannt, die sich unter Leistung von Arbeit abspielen. Allgemein begünstigen hohe Temperaturen das freiwillige Eintreten von endotherm verlaufenden Vorgängen, niedrige Temperaturen dasjenige von exothermen Vorgängen.

Damit hängt die endgültige Gleichgewichtseinstellung zusammen.

Bei allen Reaktionen, die ohne Wärmeänderungen verlaufen, erfolgt die Einstellung des Gleichgewichtszustandes nach dem Gesetze von Guldberg und Waage, ist also allein abhängig von der relativen Konzentration der einzelnen Teilverbindungen des reagierenden Gemisches. Dabei ist es ohne Belang, bei welcher Temperatur die Reaktion vor sich geht, denn diese kann nur auf die Geschwindigkeit der letzteren einwirken.

Sobald es sich aber um Vorgänge mit Wärmeumsetzungen handelt, wird die Temperatur, bei der die Umsetzungen erfolgen, einen wesentlichen Einfluß auf den Endzustand ausüben. Bei gewöhnlicher Temperatur exotherm verlaufende Vorgänge, die keinen Gleichgewichtszustand erkennen lassen, können bei sehr hohen Temperaturen entgegengesetzte endotherme Reaktionen eingehen, so daß auf diese Weise ebenfalls ein Gleichgewichtszustand hergestellt wird, der bei niederer Temperatur aber wegen des unmeßbar langsamen Verlaufes der entgegengesetzten Reaktion nicht merklich vorhanden ist. Dieselben müssen dennoch katalytisch beschleunigt werden können.

Es ist demnach eine theoretische Forderung, daß die enzymatisch beschleunigten Reaktionen auch umkehrbar oder reversibel sind. In der Tat erfüllen die Enzyme diese Forderung, wie aus mehreren Untersuchungen hervorgeht. Mit Hilfe der Enzyme können also auch Syntesen ausgeführt werden, was für die Wirkung der ausschließlich in der Zelle tätigen Enzyme beim Aufbau der Leibessubstanz von der allergrößten Bedeutung ist.

Entsprechend der Gesetzen der Katalyse führen katalytisch beeinflußte Vorgänge zu einem Gleichgewichtszustande, der durch den Katalysator nicht verändert werden kann, da er die dazu erforderliche Energie nicht zu liefern vermag. In unseren Fällen ist das Enzym der Katalysator. Betrachten wir aber enzymatisch beeinflußte Vorgänge genauer, so finden wir, daß nur in den seltensten Fällen ein echter Gleichgewichtszustand erreicht wird. Gewöhnlich steht

der Prozeß viel früher still. Daß es sich tatsächlich um keinen echten Gleichgewichtszustand handeln kann, geht aus dem Umstande hervor, daß eine erneute Zugabe von Enzym die Reaktion sofort wieder in Gang bringt und den Gleichgewichtszustand weiter verschiebt. Da es nun in einem und demselben Reaktionsgemisch nicht mehrere Gleichgewichte gibt, so kann der durch die Enzymwirkung rasch erreichte Endzustand gar nicht ein echtes Gleichgewicht sein. Wir haben es hier mit sogenannten „falschen Gleichgewichten" zu tun. Deshalb steht auch ohne erneute Enzymzugabe die Reaktion nicht still, sondern verläuft wieder so langsam weiter wie zuvor ohne Zutun des Enzyms. So würde dann nach einer außerordentlich langen Zeit der echte Gleichgewichtszustand erreicht werden.

Dies gilt natürlich nur dann, wenn nur eine Behinderung des Enzymes oder eine Schädigung desselben im Verlaufe der Reaktion eintritt und nicht etwa eine Veränderung der reagierenden Substanz selbst.

Das Nachlassen der Enzymwirkung vor Erreichung des wahren Endzustandes kann nun die verschiedensten Ursachen haben, die wir heute noch nicht einmal streng voneinander unterscheiden können. Im allgemeinen kann man alle jene Momente, die hindernd in den Gang der enzymatisch beeinflußten Reaktion eintreten, mit Oppenheimer als Paralysatoren zusammenfassen. Für dieselben ist es einerlei, ob sie nur hemmend in den Gang eingreifen ohne Schädigung des Enzymes selbst oder letzteres schwächen und vernichten. Das Wie der Behinderung kennen wir kaum genügend. Wir beobachten allerdings im Verlaufe der Wirkung eine Reihe von Erscheinungen, die wir aber jetzt wenigstens nicht streng auseinander halten können. Nach Bayliss werden die hindernden Momente in folgende Gruppen eingeteilt:

1. Reversibilität des Vorganges.
2. Bindung zwischen Enzym und Spaltprodukten } reversible Inaktivie-
3. Negative Autokatalyse } rung des Enzymes.
4. Zerstörung, überhaupt irreversible Inaktivierung des Enzymes.

Alle reversibel hindernden Paralysatoren schädigen das Enzym selbst nicht und behindern es nur in seiner Wirkung. So scheinen die meisten entstehenden Spaltungsprodukte in diesem Sinne zu hindern.

Wenn gleichzeitig mehrere Enzyme tätig sind, wie es ja in der Zelle immer der Fall ist, so können oft durch die Tätigkeit des einen Abbauprodukte entstehen, die die Wirkung des anderen gänzlich aufheben und es auch zerstören können. Auch beim Auftreten unlöslicher Spaltprodukte können diese bei ihrem Ausfallen durch mechanische Adsorption das Enzym mitreißen und so unwirksam machen.

Von den Paralysatoren im allgemeinen müssen wir die „spezifischen Paralysatoren" trennen. Es sind dies von Zellen gebildete Stoffe, die in einseitiger Weise nur ein bestimmtes Enzym inaktivieren. Man bezeichnet sie auch als Antienzyme oder Antifermente. Dieselben sind für die meisten Enzyme bekannt geworden und entstehen im Blute des Tieres, wenn die enzymhaltigen Substrate demselben eingespritzt werden.

Es gibt aber auch eine Reihe von äußeren Einflüssen, die imstande sind, eine Förderung der Enzymwirkung herbeizuführen. Sie faßt man als Aktivatoren am besten zusammen. Hier spielt die positive

Autokatalyse anscheinend eine Hauptrolle. Wir haben aber auch „spezifische Aktivatoren", die ebenfalls als Zellprodukte aufzufassen sind. Sie sind häufig thermostabil. Man bezeichnet sie als Kinasen oder Ko-Enzyme. Die Kinasen bewirken eine unmittelbare Aktivierung des noch nicht wirksamen Vorenzymes, des Zymogens, das erst nach dem Hinzutritt der Kinase zum wirksamen Enzym wird.

Im allgemeinen darf der Katalysator nur durch seinen Kontakt mit dem reagierenden Gemisch wirken, muß sich also in jedem Stadium der Katalyse in Freiheit befinden. Wir kennen aber eine Reihe von Vorgängen, bei denen der Katalysator selbst eine vorübergehende chemische Bindung erfährt, wie bei der Bildung von Äther aus Alkohol unter Schwefelsäurezusatz. Bekanntlich entsteht dabei als intermediäres Produkt Äthylschwefelsäure. In diesen Fällen bezeichnen wir die Katalysatoren als sogenannte „Pseudokatalysatoren".

Für die Enzymwirkung kann höchstwahrscheinlich eine vorübergehende Bindung des Enzymes an das betreffende Substrat angenommen werden. Bei der Spaltung oder Zerlegung desselben findet dann wieder eine Befreiung des Enzymes statt, worauf es neuerlich in Tätigkeit treten kann.

Für die Enzyme charakteristisch ist ihre Spezifizität. Durch die Untersuchungen Emil Fischers über die Glukosidspaltung durch Enzyme gelangten wir zu einer Erklärung der schon früher bekannten spezifischen Eigenschaften der Enzyme. Man wußte ja, daß für die verschiedenen der enzymatischen Spaltung unterliegenden Verbindungen bestimmte Enzyme vorhanden sind. Emil Fischer konnte nun experimentell feststellen, daß z. B. das α-Methylglukosid durch Invertin gespalten wird, während das β-Methylglukosid davon unbeeinflußt bleibt und nur vom Emulsin zerlegt wird. Letzteres vermag aber nicht die Zerlegung des α-Methylglukosides zu beschleunigen. Hier handelt es sich um gleiche chemische Verbindungen, die sich nur stereochemisch durch die Lagerung des asymmetrischen Kohlenstoffatoms unterscheiden. Sie besitzen also nur eine andere sterische Konfiguration. Fischer dehnte seine Untersuchungen auch auf andere enzymatische Spaltungen aus, und aus den Ergebnissen dieser grundlegenden Arbeiten kann man den allgemeinen Schluß ziehen, daß ein Enzym nur diejenigen Verbindungen zu spalten vermag, die mit dem betreffenden Enzym ein sterisch gleichgelagertes Atom besitzen. Die übrige Zusammensetzung derselben scheint belanglos zu sein. Demnach kann ein Enzym auch mehrere verschiedene Verbindungen in den Reaktionen beeinflussen, sofern dieselben nur das für das Enzym passend sterisch gelagerte Atom aufweisen, womit aber die Spezifizität der Enzyme vollständig gewahrt bleibt. Diese Anpassung zwischen der Konfiguration der zu spaltenden Substanz und dem Enzym deutet aber ebenfalls auf eine vorübergehende Bindung desselben.

Wie schon oben angedeutet, wird die Enzymwirkung durch eine Reihe äußerer chemischer und physikalischer Faktoren beeinflußt. Die einzelnen Enzyme verhalten sich diesen Einflüssen gegenüber außerordentlich verschieden, weshalb sich in dieser Hinsicht nur wenige allgemeine Angaben machen lassen.

Sehr geringe Mengen von Säuren sind der Enzymwirkung nicht hinderlich, denn freie H^+Ionen erweisen sich dabei als not-

wendig. Größere Säuremengen wirken hinderlich oder zerstören das Enzym.

Gegen freie Alkalien sind die Enzyme wenig widerstandsfähig und werden schon durch geringe Mengen freier OH^-Ionen meistens in der Wirkung behindert. Eine Ausnahme macht nur das Pankreasenzym und die ihm nahestehenden Trypsine der Bakterien, die gerade in alkalischer Lösung wirksamer sind.

Die Neutralsalze sind im allgemeinen in niederen Konzentrationen für Enzyme unwirksam oder wenig schädigend, während die konzentrierten Lösungen derselben eine Fällung der Enzyme herbeiführen.

Die Schwermetallsalze verhalten sich außerordentlich verschieden gegen Enzyme. Wir finden unter ihnen Paralysatoren und Aktivatoren. Die einzelnen Enzyme weisen in dieser Hinsicht ebenfalls Verschiedenheiten auf. Dasselbe gilt auch für die kolloidalen Metalle.

Ozon und Sauerstoff zerstören die Enzyme, besonders bei gleichzeitiger Sonnenbestrahlung.

Schwefelwasserstoff erweist sich im allgemeinen indifferent, nur auf die Katalase wirkt er deletär.

Auch gegen die verschiedenen organischen Substanzen erweisen sich die Enzyme sehr verschieden widerstandsfähig. Von den Körpern der Fettreihe sind im allgemeinen die niederen Alkohole der Wirkung der Enzyme schädlich. Sie zerstören sie aber nur sehr langsam, weshalb sie zur Gewinnung vielfach Anwendung finden. Azeton und Äther beeinflussen die Enzyme sehr wenig. Formaldehyd zerstört schon in 1proz. Lösung die meisten Enzyme sehr rasch. Chloroform schädigt mehr oder minder stark alle Enzyme.

Viel untersucht ist die Einwirkung aromatischer Verbindungen auf die verschiedenen Enzyme, da dieselben eine Fülle sehr brauchbarer Desinfektionsmittel abgeben. Phenol, Thymol, Salizylsäure und Benzoesäure verhalten sich den Enzymen gegenüber gewiß nicht völlig indifferent, sondern schädigen sie gewiß, jedoch viel weniger als die lebenden Zellen selbst. Das gleiche gilt für eine Reihe ätherischer Öle, wie besonders Senföl.

Die Alkaloide scheinen keinen besonders bemerkenswerten Einfluß auf die Enzyme im allgemeinen zu besitzen.

Blausäure (auch Zyanamid, Azetonitril und Hydroxylamin) hemmen die meisten Enzyme nicht mit Ausnahme der Peroxydase und der Zymase. Es findet aber keine Zerstörung derselben statt, denn nach Entfernung der Blausäure wirken sie wie ursprünglich.

Von den physikalischen Einflüssen ist besonders derjenige der Temperatur hervorzuheben. Alle Enzyme sind thermolabile Substanzen, die schon durch verhältnismäßig niedere Temperaturen, die nur wenig über der Koagulationstemperatur der Eiweißkörper liegen, vernichtet werden. Die meisten von ihnen werden schon durch eine kurze Einwirkung von Wärmegraden um 70° dauernd geschädigt; dies gilt aber nur für ihre Lösungen, da sie in Form trockener Pulver selbst Temperaturen über 120° längere Zeit hindurch ohne Schädigung ihrer Wirkung ertragen. Übrigens verhalten sich auch in dieser Hinsicht die einzelnen Enzyme sehr verschieden. Auch der Grad der Reinheit

ist dabei mitbestimmend. Je reiner das Enzym oder besser gesagt die Enzymlösung ist, desto empfindlicher erweist es sich gegen Hitze. Tiefe Temperaturen scheinen die Enzyme kaum zu schädigen; sie werden dadurch nur in ihrer Wirkung gehemmt.

Sonnenlicht schädigt die Enzyme im allgemeinen sehr wenig, sofern man den Sauerstoff abhält und indifferente Lösungsmittel verwendet. Im trockenen Zustande findet keine Zerstörung derselben statt. Übrigens stimmen diese Angaben nur für Versuche, bei denen die Enzyme unter Glas gehalten sind. In diesem Falle wird die Wirkung der Sonnenstrahlen allerdings dann erhöht, wenn sich bei Sauerstoffanwesenheit gleichzeitig Sensibilisatoren, wie beispielsweise fluoreszierende Stoffe, in der Enzymlösung befinden. Wenn die Versuche mit Sonnenlicht aber in Gefäßen angestellt werden, deren Wände die nicht sichtbaren oder ultravioletten Strahlen glatt hindurchlassen, dann findet eine rasche Zerstörung aller Enzyme statt. Der Sauerstoff spielt dabei gar keine Rolle, denn die Vernichtung tritt auch bei Ausschluß desselben ein. Im besonderen verhalten sich die einzelnen Enzyme den ultravioletten Strahlen gegenüber insofern verschieden, als die Vernichtungszeit eine verschiedene ist. Von den kurzwelligen Strahlen scheinen die von 220—253 $\mu\mu$ die wirksamsten zu sein, sofern man die am Lab erhaltenen Ergebnisse verallgemeinern darf.

Röntgenstrahlen erweisen sich den Enzymen gegenüber als ziemlich indifferent, jedenfalls schädigen sie sie innerhalb kurzer Zeit nicht bemerkenswert.

Über die Art und Weise der Wirksamkeit der Radiumstrahlen gehen die Untersuchungsergebnisse etwas auseinander. Emulsin und Trypsin sollen von ihnen geschädigt werden, andere Enzyme dagegen nicht. Andererseits schädigt der Zusatz von Radiumbromid oder von Wasser, das Radiumemanation enthält, die Trypsinwirkung nicht, sondern soll sie sogar nach Bergell günstig beeinflussen, was allerdings von anderen Untersuchern nicht bestätigt wird.

Die Wirkungen statischer und galvanischer Elektrizität auf Enzyme ist noch wenig untersucht. Wenigstens bei letzterer werden die elektrolytisch entstandenen Produkte einen wesentlichen Einfluß auf die Enzymwirkung und das Enzym haben können. Bei der Anwendung starker Ströme und solcher von hoher Spannung findet allerdings eine Schädigung statt. In dieser Hinsicht ergeben sich für die einzelnen Enzyme ebenfalls recht beträchtliche Unterschiede.

Bevor die in den Bakterien nachgewiesenen Enzyme und deren Wirkungsweise eingehender dargelegt werden wird, soll die Enzymnomenklatur, die in folgendem gebraucht wird, kurz erörtert werden.

Früher stellte man die „organisierten Fermente“ den „unorganisierten Fermenten“ gegenüber. Für letztere wurde nach Kühne auch der Name Enzyme gebraucht. Man verstand darunter Fermente, die auch losgelöst von der Zelle ihre Wirksamkeit behalten. In die Gruppe der „organisierten Fermente“ gehörten jene, die nur im Zusammenhang mit der lebenden Zelle ihre Wirkung äußerten. Heute fordern wir von jedem Ferment die Charaktere eines „unorganisierten Fermentes“, weshalb bisher und auch in der Folge dafür ganz allgemein die Bezeichnung „Enzym“ gebraucht werden soll.

Die einzelnen Enzyme bezeichnet man am besten durch Anhängung der Silben -ase an den Namen desjenigen Substrates, das vornehmlich vom betreffenden Enzym angegriffen wird. Allerdings stößt diese einheitliche Nomenklatur bei lange bekannten Enzymen auf Schwierigkeiten, da der alt eingebürgerte Name sich nur schwer elliminieren läßt. Immerhin lassen sie wenigstens eine Modernisierung zu, die einigermaßen zur zweckmäßigen Einheitlichkeit der Bezeichnungen führt.

b) Einteilung der Enzyme.

Der Wirkungsweise der Bakterienenzyme entsprechend, können dieselben in drei große Gruppen eingeteilt werden. Diesen Gruppen schließen sich dann Enzyme an, die man nach den bisherigen Ergebnissen als zweifelhaft bezeichnen muß.

Die erste Gruppe umfaßt jene Enzyme, die rein hydrolytische Spaltungen beschleunigen. Man kann sie nach Hugo Fischer als **Schizasen** bezeichnen oder mit Oppenheimer als **Hydrolasen**. Die durch sie beeinflußten hydrolytischen Spaltungen verlaufen genau so wie die Säure- oder Alkalihydrolyse, bei denen die Spaltung des hochkomplexen Ausgangsmateriales in einfachere Verbindungen unter Aufnahme der Wasserelemente erfolgt. Dabei entstehen Produkte, deren Atomgruppen im Molekül des Ausgangskörpers bereits enthalten waren.

Die zweite Gruppe umfaßt die oxydierenden Enzyme oder **Oxydasen**, die als Sauerstoffübertrager katalytisch fungieren.

In der dritten Gruppe sind die Gärungsenzyme zusammengefaßt, die man zweckmäßig und einheitlich mit Oppenheimer als **Zymasen** bezeichnet.

Die **Reduktasen** können als vierte kleine Gruppe anhangsweise angeschlossen werden, da ihre Existenz keineswegs sichergestellt erscheint.

Die drei Gruppen enthalten dann wieder eine Reihe von Enzymen, wie sie für die verschiedenen Umsetzungen als spezifisch bezeichnet werden können. Demnach ergibt sich folgende Übersicht der Bakterienenzyme:

A. Hydrolasen (Schizasen).

I. Proteasen.

1. Tryptasen, 2. Pepsinasen, 3. Nukleasen, 4. Peptasen und Ereptasen, 5. Arginasen, 6. Urease, 7. Aminazidasen.

II. Koagulasen.

1. Chymase, 2. als Anhang Bakterienhämolysine, Leukozidin, Pyozyanase.

III. Esterasen.

1. Lipase.

IV. Karbohydrasen.

1. Glykosidasen, 2. Polysaccharasen, 3. Trisaccharasen, 4. Disaccharasen.

B. Oxydasen.

1. Alkoholase, 2. Azidoxydasen, 3. Phenolase, 4. Tyrosinase.

C. Zymasen.

1. Bakterienzymase.

D. Reduktasen.

E. Katalasen.

Erste Gruppe: A. Hydrolasen.

Wie schon früher angedeutet, gehören in die Gruppe der Hydrolasen oder Schizasen jene Endo- und Ektoenzyme, welche unter Aufnahme der Elemente des Wassers Spaltungen beschleunigen. Dieser Abbau komplexer Verbindungen ist also hydrolytischer Natur und hat sein Analogon in der Säure- und Alkalihydrolyse. Diese Spaltungen führen zu einfacheren Verbindungen, deren Atomgruppen im Molekül des Ausgangskörpers bereits enthalten sind. Es findet also bei den durch Hydrolasen beschleunigten Spaltungen keine innere Umlagerung in den Atomgruppen statt.

Im allgemeinen wirken die Bakterienhydrolasen gegen Eiweißkörper und diesen nahestehende Verbindungen, gegen Fette und Kohlehydrate.

I. Proteasen.

In dieser Untergruppe faßt man eine Reihe hydrolytisch spaltender Enzyme zusammen, deren Wirkung gegen Eiweißkörper, deren Bruchstücke und Abkömmlinge, und gegen den Eiweißkörpern nahestehende Verbindungen in Erscheinung tritt. Diese Enzyme werden in vielen Fällen dauernd in der lebenden Bakterienzelle zurückgehalten und wirken als Endoenzyme. Bei zahlreichen Bakterienarten werden die Proteasen aber nach außen abgeschieden und wirken dementsprechend auch außerhalb der lebenden Zelle als Ektoenzyme. Die komplette Aufspaltung der Eiweißkörper ist durchaus nicht auf die Wirkung eines einzigen Enzymes zurückzuführen, sondern auf das Nebeneinander- und Hintereinanderwirken mehrerer Hydrolasen. Die Bakterienproteasen werden durch eine einstündige Einwirkung einer Temperatur von 55 bis 70° C zerstört. Auch das Temperaturoptimum für die Wirkung ist für diese Proteasen verschieden und fällt im allgemeinen mit dem Wachstumstemperaturoptimum der betreffenden Bakterienart zusammen.

1. Tryptasen.

Sowohl genuine Eiweißkörper als auch Nukleoalbumine werden von den Tryptasen kräftig angegriffen, die analog dem Pankreastrypsin wirken und aller Wahrscheinlichkeit nach in jeder Bakterienzelle vorhanden sind. Viele Bakterienarten besitzen die Fähigkeit, bei ihrem Wachstum auf erstarrter Nährgelatine dieselbe mehr oder weniger stark zu verflüssigen. In diesen Fällen ist das leimlösende, auch als „kollolytisch“ oder „gelatinolytisch“ bezeichnete Enzym eine Ektotryptase. Fehlt aber der Bakterienart die Fähigkeit, beim Wachstum Gelatine zu verflüssigen, so enthält dieselbe höchstens Endotryptasen, die entweder durch Abtöten der Zellen mit entsprechenden Desinfektionsmitteln freigemacht werden können oder durch Auspressen des Zytoplasmas nach Zertrümmerung der Zellen. Solche Bakterienpreßsäfte besitzen dann wie der Hefepreßsaft stark leimlösende Eigenschaften.

Unter Mitwirkung der Tryptasen vollzieht sich der Abbau der Eiweißkörper analog demjenigen durch die Säurehydrolyse. Es

erfolgt zuerst eine Zerlegung in Polypeptidgemische. Aus diesem Gemisch werden nach Abderhalden nur jene Polypeptide weitergespalten, die natürlich vorkommende, optisch aktive Aminosäuren enthalten; von den razemischen Polypeptiden aber nur der eine Paarling, sofern er natürliche Aminosäuren an sich hat. Der Abbau dieser Polypeptide geht sehr tief, herab bis zu Ammoniak, über heterozyklische Verbindungen der Pyrazol-, Pyrrol- und Indolreihe, Aminosäuren der aromatischen Reihe, Thioamino-, Oxyamino-, Diamino- und Aminosäuren.

Auch die Nukleoproteide unterliegen der tryptischen Spaltung, wobei aber Nukleinsäure restlich übrigbleibt, die durch andere spezifische Enzyme weiter gespalten wird.

Die Tryptasen wirken am besten bei schwach alkalischer Reaktion, also in Substraten mit einer geringen Menge freier Hydroxylionen. In stark alkalischer oder saurer Lösung werden sie in ihrer Wirkung gehemmt und schließlich zerstört.

2. Pepsinasen.

Die durch Pepsinasen beschleunigten Spaltungen der Eiweißkörper gehen im allgemeinen nicht sehr tief. Sie wirken ebenfalls beim Abbau von genuinen Eiweißkörpern (auch Nukleoalbuminen und Nukleoproteiden, Kollagen, Glutin, Elastin usw.), wobei aber nur Peptone, also Polypeptidverbindungen entstehen, die von ihnen nicht weiter zerlegt werden. Die Pepsinasen spalten Nukleinverbindungen in Nukleinsäure und einen Eiweißrest, der von ihnen nicht weiter angegriffen wird.

Die Bakterienpepsinasen wirken ähnlich dem Pepsin des Magensaftes am besten bei saurer Reaktion, also bei Anwesenheit freier Wasserstoffionen.

Zu den Pepsinasen ist vielleicht auch das Elastin lösende Enzym Eijkmanns zu rechnen. Ob in dem Papayotin Beckolts ein Gemisch von Tryptase und Pepsinase vorliegt, ist kaum zu entscheiden. Ein dem Papayotin ähnliches Enzym wurde beim Bacillus fluorescens liquefaciens, einer sehr verbreiteten Wasserbakterie, nachgewiesen.

3. Nukleasen.

Für die weitere Spaltung der beim Abbau der Nukleoproteide durch die Pepsinasen unangegriffen übrigbleibenden Nukleinsäure kommt ein besonderes Enzym, die Nuklease, in Betracht, welche auch in Bakterien schon seinerzeit von Schitenhelm und Schröter nachgewiesen worden ist. Dabei entstehen Xanthin, Hypoxanthin und Phosphorsäure.

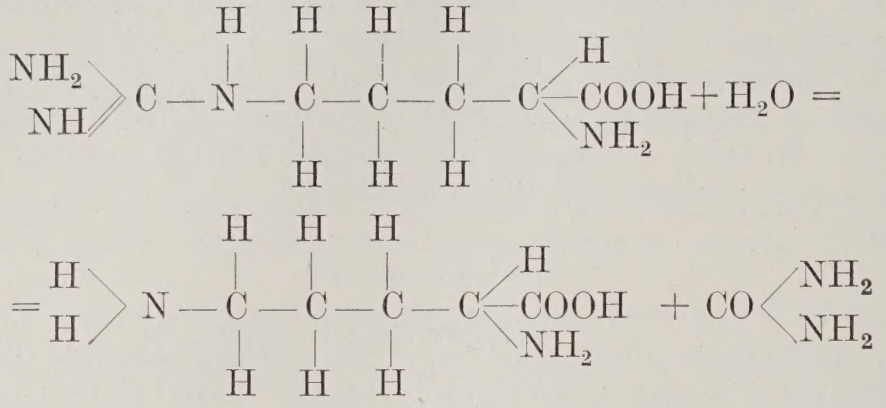
4. Peptasen.

Die Peptasen richten ihre Tätigkeit gegen die bei der tryptischen und peptischen Spaltung restierenden Polypeptide und einfacheren Verbindungen. Sie werden entweder als Endoenzyme in der Zelle zurückgehalten, oder aber in das umgebende Medium abgegeben, wie beispielsweise die Ereptasen. Sie bauen Polypeptide bis zu den einfachsten Verbindungen ab, wie es die Tryptasen nur bei ganz wenigen Polypeptiden zustande bringen. Sie entfalten ihre Wirkung am stärksten bei einer schwach alkalischen Reaktion der Lösungen.

5. Arginase.

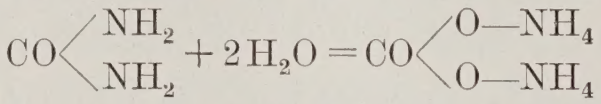
Beim enzymatischen Abbau der Eiweißkörper entsteht als besonderes Spaltungsprodukt Arginin, das durch ein spezifisches Enzym, die Arginase, in Ornithin ($\alpha.\delta$-Diamino-n-Valeriansäure) und Harnstoff zerlegt wird. Für Bakterien ist die Arginase nicht mit Sicherheit festgestellt; jedenfalls wurde sie aber in der Hefe nachgewiesen.

Der Verlauf der Spaltung des Arginins (α-Amino-δ-Guanidino-n-Valeriansäure) vollzieht sich unter Aufnahme eines Moleküles Wasser nach der Gleichung:



6. Urease.

Die bakterielle hydrolytische Spaltung des Harnstoffes geht auf die Tätigkeit der Urease zurück, eines Enzymes, das von den Harnstoffbakterien in reichlicher Menge produziert wird. Die Spaltung des Harnstoffes erfolgt dabei im Sinne der Gleichung:



7. Aminazidase.

Untersuchungen über die Spaltung des Asparagins durch Bakterien haben ergeben, daß dabei ein besonderes, Aminosäuren abbauendes Enzym, eine Aminazidase, tätig ist.

Anhangsweise sei ein kurzer Überblick über die Wirkung der Proteasen beim Abbau des genuinen Eiweißes und einiger seiner Bruchstücke gegeben.

1. Genuines Eiweiß mit

Tryptasen	Pepsinasen	
entstehende Spaltungsprodukte:	entstehende Spaltungsprodukte:	
Polypeptide mit natürlichen, aktiven Monoaminosäuren, die sofort weiter gespalten werden in heterozyklische, aromatische Abbauprodukte, Lysin, Arginin, Monoamidokarbonsäuren, Monoaminosäuren, Ammoniak	Polypeptide ohne natürliche, aktive Monoaminosäuren	Polypeptidkomplexe
	mit Peptasen und Ereptasen entstehende Abbauprodukte: Heterozyklische, aromatische Spaltungsprodukte, Lysin, Arginin, Monoamidokarbonsäuren, Monoaminosäuren, Ammoniak.	

2. Arginin + Arginase
ergibt als Spaltungsprodukte:

Ornithin Harnstoff

3. Harnstoff + Urease
ergibt als Spaltungsprodukt:

Ammoniumkarbonat.

4. Nukleinverbindungen mit

Tryptasen ergeben als Spaltungsprodukte:		Pepsinasen ergeben als Spaltungsprodukte:
Weiter zersetzbare Eiweißgruppen	Nukleinsäure — mit Nuklease ergibt als Spaltungsprodukte: Xanthin, Hypoxanthin, Phosphorsäure — Nukleinsäure	Weiter zerlegbare Spaltungsprodukte

II. Koagulasen.

Die sogenannten Koagulasen lassen sich ungezwungen den Proteasen anschließen. Sie sind dadurch charakterisiert, daß durch ihre Wirkung gelöste oder in Scheinlösung befindliche, komplizierte, also hochmolekulare Verbindungen in in Wasser unlösliche Verbindungen übergehen, die dann in gröberer oder feinerer Form ausfallen.

1. Bakterienchymase.

In diese Gruppe von Enzymen gehört die Bakterienchymase oder das Bakterienlab. Dasselbe schließt sich in seinen Wirkungen weniger dem tierischen Lab an, als vielmehr dem Parachymosin. Allerdings findet hier ebenfalls eine Koagulierung des Kaseins unter Bildung von Parakasein statt. Der Vorgang ist aber so zu denken, daß zuerst die Überführung des Kaseins in Parakasein unter Hydrolisierung erfolgt und die eigentliche Füllung des letzteren ein Prozeß für sich ist. Höchstwahrscheinlich bleibt die Bakterienchymase zeitlebens in der Zelle und wird erst nach dem Tode derselben frei. Deshalb merkt man in sehr jugendlichen Kulturen, die noch wenige tote Zellen enthalten, nur wenig von labenden Wirkungen.

2. Bakterienhämolysine.

Dieselben werden von zahlreichen Bakterienarten in mehr oder minder großer Menge erzeugt. Besonders eine Reihe tierpathogener Bakterien vermag kräftig Hämolysine zu erzeugen. Dieselben bewirken eine Veränderung der frischen roten Blutkörperchen, die zu einem Austritt des roten Blutfarbstoffes, des Hämoglobins, führt. Dabei kommt es später zu einer Lösung des ganzen Blutkörperchens, die aber als sekundärer Prozeß anzusehen ist und mit dem Enzym der Hämolyse nichts

zu tun hat. Daß es sich bei der Hämolyse wahrscheinlich um einen enzymatischen Prozeß handelt, geht daraus hervor, daß die Bakterien nicht nur in unmittelbarem Kontakt mit den Blutkörperchen die Hämolyse herbeiführen, sondern in Gallerten diffundierende Stoffe absondern, die diese Wirkung ebenfalls zeigen. Allerdings müssen es nicht Enzyme sein, denn auch gewisse Stoffwechselprodukte wirken hämolytisch.

Der Vollständigkeit wegen seien hier auch das **Leukozidin** und die **Pyocyanase** genannt. Ersteres ist sehr wärmeunbeständig. Nach dem ganzen Vorgange der Wirkung, der darin besteht, daß das Leukozidin nach den Untersuchungen von Neisser und Wechsberg die weißen Blutkörperchen oder Leukozyten unter Bildung von Granulationen in denselben tötet und schließlich löst, scheint es sich hier um eine Summe von Wirkungen mehrerer Stoffe zu handeln, von denen gewiß nicht alle Enzymnatur aufweisen.

Die Pyocyase wieder, ein Produkt der Pseudomonas aeruginosa, löst arteigene Zellen und andere Bakterien mehr oder minder komplett. Auch hier scheint es sich um ein Enzymgemisch zu handeln, dessen einzelne Komponenten noch keineswegs erkannt sind.

III. Esterasen.

Die Esterasen beschleunigen hydrolytische Spaltungen von Säureestern in Alkohole und Säuren.

1. Lipase.

In diese Enzymgruppe gehört die Phytolipase, die in zahlreichen Bakterienarten nachgewiesen worden ist. Sie wirkt beim Abbau von Fetten in freie Fettsäuren und Glyzerin unter Aufnahme der Elemente des Wassers nach der allgemeinen Formel:

$$C_3H_5(O \cdot C_nH_{2n-1}O)_3 + 3\,H_2O = C_3H_5(OH)_3 + 3\,C_nH_{2n}O_2.$$

Als konkretes Beispiel diene der Abbau des Tristearins durch Lipase:

$$C_3H_5(O \cdot C_{18}H_{35}O)_3 + 3\,H_2O = C_3H_5(OH)_3 + 3\,C_{18}H_{36}O_2$$
$$\text{Glyzerin} + \text{Stearinsäure}$$

Das Optimum der Lipasewirkung liegt bei der verhältnismäßig niedrigen Temperatur von 45° C.

IV. Karbohydrasen.

Die Karbohydrasen sind bei den Bakterien weit verbreitet und beschleunigen im allgemeinen die hydrolytische Spaltung von Kohlehydraten.

1. Glykosidasen.

Zahlreiche Bakterien besitzen die Fähigkeit, Glykoside enzymatisch zu spalten, weshalb man für die entsprechenden Enzyme auch den Namen Glykosidasen eingeführt hat. Die Glykoside kann man als ätherartige Verbindungen von Zuckerarten mit organischen Hydroxylderivaten ansehen.

a) Amygdalase.

Eine solche Glykosidase ist die Amygdalase oder das Emulsin, welches bei der bakteriellen Spaltung des Amygdalins wirksam ist. Einige Stämme des darmbewohnenden Bacillus coli erzeugen Amyg-

dalase, überhaupt Glykosidasen, die dann auch gegen Salicin, Coniferin und Iridin wirksam sind.

Das Optimum der Amygdalasewirkung liegt bei 40—45° C. Eine Ausnahme in dieser Hinsicht macht nur die Amygdalase des Bacillus emulsinus und Bacillus thermophilus. Diese Bakterienarten haben selbst ein sehr hohes Temperaturoptimum und zerspalten daher erst die ihren Nährlösungen zugesetzten Glykoside bei 60° C.

Der Amygdalinabbau erfolgt nach der Formel:

$$C_{20}H_{27}NO_{11} + 7\,H_2O = 2\,C_6H_{12}O_6 + HCN + C_2H_5OH$$

Glykose Blausäure Benzaldehyd

Auch die Spaltung der obengenannten Glykoside ergibt immer Glykose als ein Spaltungsprodukt, wie folgende drei Beispiele zeigen:

Salicin: $C_{13}H_{18}O_7 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_7H_8O_2$

Glykose Saligenin

Coniferin: $C_{16}H_{22}O_8 + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{10}H_{12}O_3$

Glykose Koniferylalkohol

Iridin: $C_{24}H_{26}O_{12} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{18}H_{16}O_8$

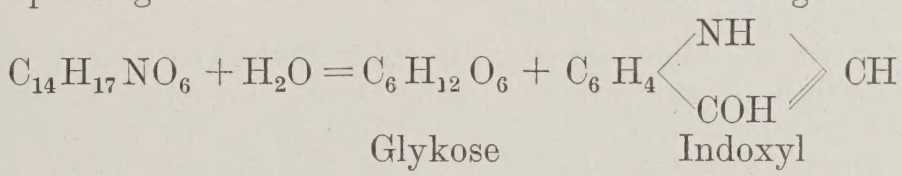
Glykose Irigenin.

Anhangsweise sei erwähnt, daß Emulsin oder Amygdalase auch auf die Hexotriose Raffinose einwirkt, wobei dieselbe in d-Galaktose und Rohrzucker gespalten wird.

b) Indicanase.

Das in den Blättern von Indigoferaarten enthaltene Glykosid Indican wird von vielen Bakterienarten, wie beispielsweise dem Bacterium indigogenes, Bacillus prodigiosus, Bacterium pneumoniae, Bacillus coli, in Glykose und Indoxyl gespalten. Dabei scheint eine Glykosidase wirksam zu sein, die wohl mit dem gleichzeitig neben dem Indican in der Pflanze befindlichen Enzym Indimulsin identisch anzunehmen ist.

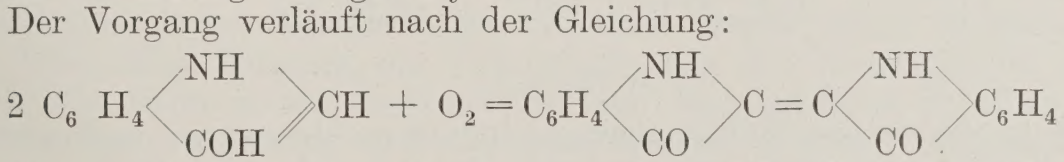
Die Spaltung vollzieht sich im Sinne der Gleichung:



Glykose Indoxyl

Das in saurer Lösung ziemlich beständige, gelbe Indoxyl wird schon in schwach alkalischer Lösung rasch vom Luftsauerstoff zur blauen Verbindung Indigo oxydiert.

Der Vorgang verläuft nach der Gleichung:



Indoxyl Indigo

2. Polysaccharasen.

Die Polysaccharasen beschleunigen hydrolytische Spaltungen der Polyosen, jener Kohlehydrate, welche beim hydrolytischen Abbau einfachere Verbindungen ergeben, die aber noch alle charakteristischen Eigenschaften der Kohlehydrate aufweisen.

a) Amylase.

Zahlreiche Bakterienarten besitzen die Fähigkeit, Stärke, also eine höhere Polyose, enzymatisch zu spalten, wobei zuerst eine Lösung der verkleisterten Stärke und dann ein Zerfall in Maltose und Dextrine statthat. Die Maltose, eine Biose von der Formel $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ im kristallisierten Zustand, wird nicht weiter angegriffen, während die Dextrine in vielen Fällen noch weiter gespalten werden. Unter Dextrinen versteht man Polyosen von kleinerem Molekulargewicht als jenem der Stärke. Sie sind wasserlöslich und gummiartig. Der soeben charakterisierte Abbau wird durch ein Enzym, die Amylase oder Diastase beschleunigt.

Die Amylase besteht nach der von Wysmann, Potevin und Beijerinck vertretenen Anschauung eigentlich aus zwei Enzymen, von denen das eine eine Lösung der Stärke herbeiführt, während das andere eine Verzuckerung der nun löslichen Stärke bewirkt. Diese vielumstrittene „Zweienzymtheorie" findet in den Ergebnissen der Untersuchungen mit „Reindiastase" aus Malz von Fränkel und Hamburg eine wesentliche Stütze, da die beiden Forscher für ihr gewiß schon sehr reines Präparat bei der Dialyse gegen gekochtes Wasser beobachteten, daß die Membran vornehmlich die verzuckernden Amylasen rasch passieren, während die stärkelösenden Enzyme quantitativ zurückgehalten wurden. Das Temperaturoptimum für die Amylase liegt hoch, da sie bei 63° C am kräftigsten wirkt.

b) Zellulase.

Die bakterielle Zersetzung von Zellulose vollzieht sich in der freien Natur in großem Maßstabe. Es sind im Laufe der Zeit zahlreiche Bakterienarten bekannt geworden, die dabei mitwirken. Auch hier scheint es sich um einen enzymatisch beschleunigten Vorgang zu handeln, der durch die Zellulose verursacht wird. Es tritt dabei eine sehr tiefe Spaltung der Zellulose ein, wobei als gasförmige Endprodukte über verschiedene Zwischenkörper hinüber vornehmlich Kohlensäure, Wasserstoff und Methan entstehen.

Man spricht im allgemeinen von einer Methangärung der Zellulose, wenn Methan als Endprodukt vorherrscht, und einer Wasserstoffgärung der Zellulose, wenn die Wasserstoffbildung in den Vordergrund tritt. Die Zellulase bewirkt nicht den kompletten Abbau, sondern scheint lediglich die hydrolytische Spaltung der Zellulose zu katalysieren, wobei die Reaktion etwa im Sinne folgender Gleichung verlaufen wird:

$$(C_6H_{10}O_5)x + xH_2O = xC_6H_{12}O_6.$$

c) Gelase.

Nur von wenigen Bakterienarten, die nur im Meerwasser vorkommen, wird Agar-Agar gelöst bzw. erweicht. Als Beispiele seien der von Gran aus Meerwasser isolierte Bacillus gelaticus und eine aus dem Hafenwasser von Triest gezüchtete Spirillenart genannt. Den Hauptbestandteil des Agars bildet das Kohlehydrat Gelose, dessen chemische Natur noch nicht festgestellt ist. Diese Gelose wird von den genannten Arten hydrolytisch gespalten, wobei ein besonderes Enzym, die „Gelase", die Reaktion beschleunigt.

d) Pektinase.

Die Pektinsubstanzen der Pflanzenreste unterliegen ebenfalls einer bakteriellen Zersetzung, die durch eine Reihe von Mikroorganismen hervorgerufen wird. In großem Maßstabe macht man von diesen mikrobiellen Vorgängen bei der Röste der Gespinstfasern Gebrauch. Dabei spielen spezifische Enzyme, die man unter der Bezeichnung „Pektinasen" vereinigt, eine hervorragende Rolle. Die an sich in Wasser unlöslichen Pektine werden hydrolytisch gespalten, wobei einfachere, lösliche Verbindungen entstehen, die einer weiteren tiefgehenden Zersetzung anheimfallen. Ähnliche Vorgänge spielen sich auch bei dem Zerfall von Mohrrüben ab, den man als Weichfäule der Mohrrüben bezeichnet. Dieselbe wird besonders durch den Bacillus carotovorus erregt, der reichlich Pektinase enthält.

3. Trisaccharasen.

Bei den Bakterien sind Trisaccharasen, also Enzyme, die Spaltungen von Hexotriosen beschleunigen, nur wenig bekannt. Wohl aber hat man eine Trisaccharase in der Oktosporushefe nachgewiesen, die auf Raffinose ($C_{18}H_{32}O_{16}$) wirkt. Man sollte die Trisaccharasen eigentlich als Polysaccharasen führen, da Raffinose eine Polyose ist. Die Trennung ist aber insofern gerechtfertigt, als man die Konstitution der Hexotriosen kennt, während diejenige der höheren Polyosen, gegen die die Wirkung der Polysaccharasen gerichtet ist, noch keineswegs feststeht.

a) Raffinase.

Das einzige genauer untersuchte Enzym bei der Spaltung der Hexotriosen ist die Raffinase. Sie wirkt bei der hydrolytischen Spaltung der Raffinose, die dabei in Fruktose und Melibiose zerlegt wird, nach der Gleichung:

$$C_{18}H_{32}O_{16} + H_2O = C_6H_{12}O_6 + C_{12}H_{22}O_{11}.$$

4. Disaccharasen.

Für die Spaltung der verschiedenen natürlichen Biosen ist eine Reihe von Enzymen bei Bakterien bekannt geworden.

a) Invertase.

Die bakterielle Spaltung der Saccharose erfolgt nicht unmittelbar bis zu einfachsten Verbindungen, sondern zuerst unter Mitwirkung eines besonderen Enzyms, der Invertase oder des Invertins in Monosen, die dann weiter abgebaut werden. Die Invertase ist eines der am längsten bekannten und dementsprechend genauer untersuchten Enzyme. Sie wirkt am besten beim Vorhandensein einer geringen Anzahl freier Wasserstoffionen, also bei schwach saurer Reaktion. Eine größere Menge freier H^+Ionen oder OH^-Ionen setzt die Wirksamkeit sehr erheblich herab.

Das Temperaturoptimum für die Invertasewirkung liegt bei 50° C. Zwischen 55 und 60° findet schon eine starke Schädigung der Invertase statt.

Die durch Invertase beschleunigte Rohrzuckerspaltung erfolgt unter Aufnahme eines Moleküles Wasser im Sinne der Gleichung:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = CH_2OH \,.\, (CHOH)_3 \,.\, CHOH \,.\, C\begin{matrix}H\\O\end{matrix} +$$
$$+ CH_2OH \,.\, (CHOH)_3 \,.\, CO \,.\, CH_2OH$$

Es entstehen also als Spaltungsprodukte je ein Molekül d-Glukose und d-Fruktose. Der Rohrzucker selbst ist bekanntlich rechtsdrehend. Das Gemenge der beiden bei der Spaltung entstehenden Monosen ist dagegen linksdrehend, da die d-Glukose weniger rechtsdrehend ist als die gleiche Menge d-Fruktose linksdrehend. Das Gemisch heißt deshalb kurz Invertzucker, weil eine Umkehrung oder Inversion des Drehungssinnes des Rohrzuckers gegenüber desjenigen seiner Spaltprodukte eingetreten ist.

b) Laktase.

Viele Milchbakterien besitzen die Fähigkeit, Milchzucker oder Laktose unter Wasseraufnahme in Monosen zu spalten. Dieser Vorgang ist enzymatisch beschleunigt. Das besondere Enzym dafür ist die Laktase, welche ein Analogon zur Invertase vorstellt. Die Spaltung des Milchzuckers durch Laktase liefert die Monosen d-Glukose und d-Galaktose, entsprechend der Gleichung:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = CH_2OH \,.\, (CHOH)_3 CHOH \,.\, C\begin{matrix}H\\O\end{matrix} +$$
$$+ CH_2OH \,.\, (CHOH)_3 CHOH \,.\, C\begin{matrix}H\\O\end{matrix}$$

Die beiden Spaltungsprodukte unterliegen sehr leicht einem weiteren Abbau.

c) Maltase.

Der bei der Amylasespaltung der Stärke als Reaktionsprodukt entstehende Malzucker (Maltose) wird unter der Wirkung eines besonderen Enzymes, der Maltase, weiter hydrolytisch abgebaut. Bei den Bakterien wurde dieses Enzym allerdings nicht unmittelbar nachgewiesen, wohl aber bei einer Reihe von Hefen, wo es ein Endoenzym ist. Man darf mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß auch Bakterien Maltase enthalten.

Die Maltosespaltung durch Maltase ergibt als Spaltungsprodukte zwei Moleküle d-Glukose.

d) Trehalase.

Das Disaccharid Trehalose, welches sich natürlich in der Trehala-Manna und in verschiedenen Pilzen findet, wird besonders von Hefen des Frohbergtypus hydrolytisch gespalten, wobei zwei Moleküle d-Glukose aus einem Molekül Trehalose oder Mykose, wie dieses Kohlehydrat auch benannt ist, entstehen. Die Spaltung wird durch das Enzym Trehalase katalysiert, das auch in Bakterien mit einem hohen Grad von Wahrscheinlichkeit angenommen werden darf.

e) Melibiase.

Melibiose entsteht als ein Spaltungsprodukt bei der Spaltung der Raffinose durch Raffinase. Besonders untergärige Hefen greifen

Melibiose stark an, wobei ein besonderes Enzym, die Melibiase, tätig ist. Es entstehen dabei d-Glukose und d-Galaktose, zwei Monosen, die wir als Abbauprodukt des Milchzuckers durch die Laktase bereits kennen gelernt haben. Wenn die Melibiase bei den Bakterien auch noch nicht sichergestellt ist, darf angenommen werden, daß sie sich bei ihnen auch vorfindet.

B. Oxydasen.

Im Leben der Zellen spielen Oxydationsvorgänge eine außerordentlich wichtige Rolle. Ohne auf die noch offene Streitfrage der Existenz besonderer Enzyme für die oxydativen Vorgänge einzugehen, wollen wir vorläufig die Enzymnatur derselben als bewiesen betrachten. Die dabei tätigen Enzyme faßt man unter dem Namen „**Oxydasen**" zusammen. Die Wirkungsweise dieser Enzyme scheint eine höchst komplizierte zu sein, in die wir erst einen sehr geringen Einblick besitzen. Es seien hier nur die zwei modernen Theorien über die Oxydasenwirkung wiedergegeben, die aller Wahrscheinlichkeit nach eine Berechtigung haben und in vielen Fällen wohl das richtige treffen. Nach Bertrand ist die Wirkung einer Oxydase auf ihren Mangangehalt zurückzuführen, wobei die Oxydasen selbst bestehend gedacht sind aus einem organischen Anion und einem Mangankation. Durch die Oxydation des Manganoxyduls wird molekulärer Sauerstoff gespalten und das dabei freiwerdende Sauerstoffatom bindet sich mit dem zu oxydierenden Körper. Das organische Anion, das nichts anderes als das Enzym selbst ist, bewirkt dann wieder eine Regeneration des Manganoxyduls. Es kann das Mangan in diesen Fällen aber auch durch Eisen ersetzt werden, da in manchen Fällen bei kräftig wirkende Oxydasen enthaltenden Substanzen nur Spuren von Mangan oder nichts davon nachgewiesen werden kann, während Eisen in ziemlicher Menge vorhanden ist.

Die zweite, weitaus wichtigere Theorie der Oxydasenwirkung stammt von Chodat und Bach. Sie ist im wesentlichen, wenigstens für die Phenole oxydierenden Enzyme (Phenolasen) sicherlich richtig. Danach soll die anorganische und organische Oxydation auf Peroxyde zurückgehen. Letztere nennen Bach und Chodat, entgegen der gebräuchlichen Bezeichnungsweise, Oxygenasen. Sie entfalten ihre Haupttätigkeit erst durch das Hinzutreten eines besonderen Enzymes, der Peroxydase im engeren Sinne des Wortes. Die Peroxydase macht aktiven Sauerstoff frei. Dazu ist noch zu bemerken, daß die Peroxydasen Enzyme sind, die nur bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxyd Oxydationen unterhalten. Die organischen Peroxyde (Oxygenasen) geben mit Wasser leicht H_2O_2, aus dem die oben genannten Peroxydasen den aktiven Sauerstoff freimachen. Im allgemeinen sind also zur Reaktion Peroxyde unbedingt notwendig, entweder H_2O_2 in Verbindung mit der Peroxydase oder organische Peroxyde unmittelbar oder mittelbar als Lieferanten von H_2O_2. Unter den indirekten Oxydationswirkungen können jene verstanden werden, bei denen das notwendige Peroxyd z. B. in Form von Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt wird. Die direkten Oxydasewirkungen sind dadurch charakterisiert, daß das entsprechende Peroxyd von der Zelle selbst gebildet wird. Zur Wirkung der Oxydasen ist der ungehinderte Zutritt des freien Sauerstoffes im allgemeinen unerläßlich.

1. Alkoholase.

Eine auch technisch sehr wichtige oxydative Spaltung ist die Essigsäuregärung, bei der unter der Wirkung der Oxydase Alkoholase Äthylalkohol zu Essigsäure verbrannt wird. Daß es sich hier um einen enzymatischen Prozeß handelt, haben zuerst Buchner und Meisenheimer durch ihre Versuche über die zellenfreie Wirkung der Alkoholase nachgewiesen. Die genannten Forscher und später auch Rothenbach und Eberlein u. a. erhielten die Umwandlung des Äthylalkohols in Essigsäure bei der Anwendung getrockneter Essigbakterienpulver, die nach Abtötung der Zellen mit Azeton gewonnen worden waren.

Die Oxydation des Äthylalkohols zu Essigsäure verläuft in zwei Etappen, in der zuerst der Alkohol zu Azetaldehyd und letzterer erst weiter zu Essigsäure oxydiert wird. Da zu dieser Oxydation stets freier Luftsauerstoff notwendig ist, spricht man auch von aërober Essigsäuregärung, der man eine anaërobe Essigsäuregärung gegenüberstellt, die sich bei der Spaltung einiger Kohlehydrate einstellt, im wesentlichen aber anders verläuft.

Bei der durch die Alkoholase beschleunigten Oxydation des Äthylalkohols spielt sich diese nach folgendem Schema ab:

$$CH_3CH_2OH + O = CH_3COH + H_2O$$
$$CH_3COH + O = CH_3COOH$$

Im allgemeinen ist der Azetaldehyd (CH_3COH) als Zwischenprodukt bei der Essigsäuregärung nur in geringer Menge vorhanden. Manche Essigbakterienarten, wie beispielsweise Bacterium industrium Henneberg erzeugen große Mengen restierenden Azetaldehyds. In diesen Fällen ist dieses Zwischenprodukt leicht nachweisbar. Wo eine rasche Oxydation des Zwischenproduktes zu Essigsäure erfolgt, kann es immerhin noch durch neutrales Kalziumsulfit abgefangen und nachgewiesen werden.

Außer dem Äthylalkohol werden noch andere niedere Alkohole durch Bakterien oxydiert, wobei die entsprechenden Fettsäuren als Endprodukte erscheinen. So können z. B. die Bakterienarten Bacterium oxydans und Bacterium acetosum den Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Amylalkohol unter Bildung von Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure, bzw. Valeriansäure + Wasser oxydieren nach der allgemeinen Formel:

$$C_nH_{2n-1}OH + O_2 = C_nH_{2n}O_2 + H_2O.$$

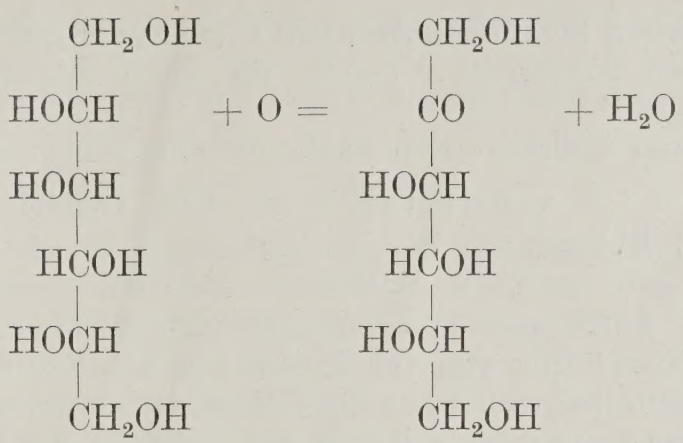
Inwieweit diese Oxydationen durch der Alkoholase nahestehende oder mit ihr identische Enzyme beschleunigt werden, kann zurzeit nicht gesagt werden.

Im Anhange an die Alkoholase seien der bakteriellen Oxydation des Glyzerins, des Mannites und des Sorbites kurz Erwähnung getan.

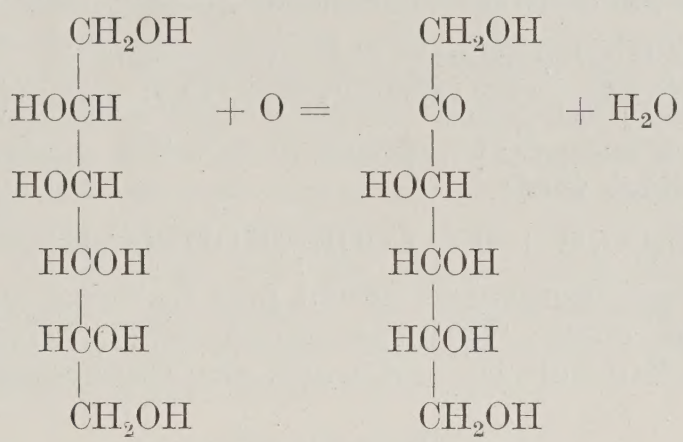
Bacterium xylinum oxydiert den dreiwertigen Alkohol Glyzerin zu Dioxyazeton und Wasser entsprechend der Gleichung:

$$CH_2OH \,.\, CHOH \,.\, CH_2OH + O = CH_2OH \,.\, CO \,.\, CH_2OH + H_2O$$

Ebenso wird unter Wasserabgabe der sechswertige Alkohol Sorbit zu Sorbose oxydativ abgebaut:



Auch der Mannit unterliegt durch die Wirkung des Bacterium aceti einer prinzipiell ähnlichen oxydativen Spaltung, wobei d-Fruktose und Wasser entstehen:



Vergleicht man die drei letztgenannten Oxydationen mit derjenigen des Äthylalkohols durch Alkoholase, so zeigt es sich, daß es sich bei der bakteriellen Oxydation des Glyzerins, des Sorbites und Mannites eigentlich um die erste Etappe des Äthylalkoholabbaues handelt. Im letzteren Falle entsteht Acetaldehyd und Wasser, hier Dioxyaceton, bzw. d-Sorbose und d-Fruktose, welche Verbindungen aber nicht weiter in einem Zuge unter der gleichen mikrobiellen Tätigkeit oxydiert werden.

2. Azidoxydasen.

Es gibt eine ganze Reihe von Bakterienarten, die das Vermögen besitzen, Monosen unter Bildung einer zugehörigen Säure und Wasser zu oxydieren. Man faßt die diese Oxydationen katalytisch beschleunigenden Bakterienenzyme unter den Azidoxydasen zusammen.

Eine der bekanntesten derartigen oxydativen Spaltungen ist die Oxydation von Monosen zu Oxalsäure und Wasser, ein Vorgang, der wenig glücklich auch als „Oxalsäuregärung" bezeichnet wird. Sie verläuft im Sinne der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 9\,O = 3\,.\,COOH\,.\,COOH + 3\,H_2O$$

Die entstehende Oxalsäure scheidet sich meist kristallinisch in Form des oxalsauren Kalkes ab. Die Gruppe der Essigbakterien enthält Vertreter, die bei ihrer Zucht in dextrosehaltigen Nährsubstraten Oxalsäure liefern.

Hierher zu rechnen ist auch die Oxydation der Dextrose zu Zitronensäure und Wasser, die man als „Zitronensäuregärung"

bezeichnet. Gewisse Schimmelpilze, wie Citromyces glaber, verursachen sie, während eine bakterielle Ursache für diese Spaltung noch nicht festgestellt ist.

Die Oxydation vollzieht sich nach der Gleichung:

$$C_5H_{12}O_6 + 3O = \begin{matrix} COOH\,.\,CH_2 \\ | \\ OH \end{matrix} \!\!>\!\! C \!\!<\!\! \begin{matrix} CH_2\,.\,COOH \\ | \\ COOH \end{matrix} + 2\,H_2O$$

Eine unter Aufnahme von weniger Sauerstoff sich abspielende Oxydation ist die Bildung von Glukonsäure aus Traubenzucker; eine Reihe von Essigsäurebakterien hat die Fähigkeit, diese Oxydation durchzuführen. Manche von ihnen, wie z. B. Bacterium aceti, Bacterium Kützingianum, können unter besonderen Bedingungen die gebildete Glukonsäure zu Glukuronsäure weiteroxydieren.

Im ersteren Falle erfolgt der Prozeß im Sinne der Gleichung:

$C_6H_{12}O_6 + O = CH_2OH(CHOH)_4CO_2H$ (Glukonsäure)
$CH_2OH(CHOH)_4CO_2H + O = COH(CHOH)_4CO_2H + H_2O$ (Glukuronsäure)

Unter Umständen kann die Oxydation noch weiter gehen, wodurch dann Zuckersäure gebildet wird:

$$COH(CHOH)_4CO_2H + O = COOH(CHOH)_4CO_2H \text{ (Zuckersäure).}$$

Auch bei diesen Vorgängen spricht man im Sinne der entstehenden Endprodukte von einer „Glukonsäuregärung", „Glukuronsäuregärung" bzw. „Zuckersäuregärung" des Traubenzuckers.

3. Phenolasen.

Nach Oppenheimer versteht man unter Phenolasen Oxydasen, „die aromatische Amine und Phenole unter Farbstoffbildung oxydieren, vor allem Guajaktinktur bläuen, dagegen auf Salizylaldehyd ohne Einwirkung sind". Das bekannteste Enzym dieser Art ist die Lakkase, die bei der Bereitung des japanischen Lackes eine wesentliche Rolle spielt.

In einigen Fällen wurde auch eine durch Bakterien bewirkte Oxydation von Hydrochinon durch Bacillus coli beobachtet.

Das Braun- oder Rahnwerden des Weißweines wird durch eine Phenolase hervorgerufen, die durch Temperaturen von 60° C zerstört wird. Oft ist der unter Luftabschluß verwahrte Wein blank und hellfarbig, während er, in ein Glas gegossen, von oben her, wo die Luft Zutritt hat, allmählich nach unten fortschreitend sich braun verfärbt, dann trübt und schließlich einen Bodensatz abscheidet. Die dabei wirksame Phenolase wird als Oenoxydase bezeichnet und gelangt wahrscheinlich von den mit Pilzen besetzten Beeren bei der Kelterung in den Wein.

4. Tyrosinase.

Einige Bakterienarten, wie Bacillus pyocyaneus, Bacillus fluorescens, Bacillus tyrosinaticus usw. färben ihre Nährsubstrate dunkelbraun, sofern dieselben Tyrosin enthalten oder solches von ihnen selbst gebildet wird. Dabei handelt es sich um eine Oxydation des Tyrosins, die durch das Enzym Tyrosinase beschleunigt wird. Wenn auch die Tyrosinase ihre Tätigkeit vornehmlich gegen Tyrosin richtet,

kann sie aber auch andere Verbindungen, wie Tryptophan usw. oxydieren.

Temperaturen von 60—70° C zerstören die Tyrosinase in kurzer Zeit.

C. Zymasen.

Bei den Bakterien finden wir auch **Gärungsenzyme** weit verbreitet. Darunter verstehen wir mit Buchner Enzyme, welche Zucker in Milchsäure und in Alkohol und Kohlensäure umsetzen. Die alkoholische Gärung erfolgt immer in zwei Etappen durch zwei Enzyme, die sozusagen hintereinander in Wirksamkeit treten. Zuerst entsteht aus den gärungsfähigen Zuckern Milchsäure oder ein leicht milchsäuregebendes „Vorprodukt", das endlich durch ein zweites Enzym in Alkohol und Kohlensäure zerlegt wird. Die Vorgänge sind in beiden Fällen intramolekularer Natur und verlaufen ohne Aufnahme der Elemente des Wassers. Es wird dabei eine Umlagerung von Sauerstoffatomen herbeigeführt und durch die Erreichung einer höheren Oxydationsstufe eines Teiles der Verbindung diese selbst zerlegt.

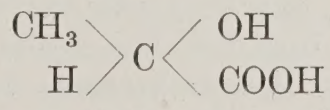
Bei den lebenden Hefen finden wir die erste Phase der alkoholischen Gärung, die Milchsäuregärung, niemals; desgleichen findet auch eine Weitervergärung zugesetzter Milchsäure nicht statt. Beides zeigt aber die Gärung mit dem Preßsaft der Hefe, wie aus den Versuchen Buchners und Meisenheimers hervorgeht. Bei den Bakterien wieder sehen wir häufig eine reine Milchsäuregärung ohne Alkoholbildung, die ebenfalls enzymatischer Natur ist.

1. Bakterienzymase.

Die bakterielle Milchsäuregärung wird von sehr vielen Bakterienarten, insonderheit von Milchsäurebakterien, durchgeführt. Mit Oppenheimer können wir das entsprechende Enzym als Bakterienzymase bezeichnen, da auch Buchner das für die erste Umsetzung bis zur Vorstufe der Milchsäure bei der alkoholischen Gärung wirksame Enzym „Zymase im engeren Sinne" nannte. Wenn es sich in beiden Fällen vielleicht nicht um völlig identische Enzyme handelt, so stehen sie einander doch außerordentlich nahe.

Sowohl E. Buchner und Meisenheimer als auch Herzog haben durch Abtöten von Milchsäurebakterien (Bacillus acidi lactici und Bacillus Delbrücki) mit Methylalkohol, bzw. Azeton ein Bakterienpulver erhalten, das die Milchsäuregärung verursachte, womit der Enzymcharakter dieser Gärung festgestellt ist.

Bei der bakteriellen Milchsäuregärung entsteht immer die α-Oxyproprionsäure:



welche auch als Äthylidenmilchsäure oder Gärungsmilchsäure bezeichnet wird. Meist handelt es sich um die razemische, also inaktive Form. In anderen Fälle beobachtet man die rechtsdrehende Fleischmilchsäure oder Paramilchsäure oder auch die linksdrehende Modifikation der Milchsäure. Das Endprodukt ist von der Bakterienart selbst beeinflußt, die die Gärung erregt, und von dem Nährboden,

der der Bakterienart zur Verfügung steht. Es scheint, daß in allen jenen Fällen, bei denen ein aktiver Paarling der Milchsäure als Gärprodukt zur Darstellung gelangt, derselbe als Rest einer mehr oder minder vollkommeneren Weiterspaltung des anderen Paarlings der razemischen Milchsäure aufzufassen ist. Gestützt wird diese Annahme noch dadurch, daß von einigen Bakterienarten bei der Milchsäuregärung neben der razemischen Milchsäure noch die eine oder andere optisch aktive Modifikation der Milchsäure nachweisbar ist. Andererseits ist wenigstens für diejenigen Fälle, in denen die Summe der durch Gärung gewonnenen Mengen der verschiedenen Milchsäuremodifikationen quantitativ der Menge des Ausgangsmateriales entspricht, die Auffassung Hörths akzeptabel. Danach beschleunigt die Bakterienzymase beide Reaktionen, sowohl diejenige, welche zur Bildung der rechtsdrehenden als auch jene, welche zum Entstehen der linksdrehenden Milchsäuremodifikation führt. Bei gleicher Intensität beider muß natürlich das razemische Produkt entstehen, bei ungleicher aber die eine oder andere aktive Komponente überwiegen. Das Auftreten verschiedener Säuremodifikationen hat nach dieser Theorie also seinen tieferen Grund in dem Enzym selbst.

Der Milchsäuregärung unterliegen alle einfachen Hexosen (Glykose, Galaktose, Fruktose, Mannose usw.), dann die Pentosen Rhamnose, Arabinose und Xylose. Milchzucker, Rohrzucker usw. werden von der Bakterienzymase erst nach voraufgegangener Inversion durch Laktase bzw. Invertase angegriffen, bzw. die nach der Inversion entstehenden Hexosen werden vergoren. Auch Raffinose und Methylglykosid müssen zuerst von anderen Enzymen gespalten werden, um dann der Milchsäuregärung zu unterliegen.

Bei der Milchsäuregärung zerfällt ein Molekül Hexose in zwei Moleküle Milchsäure nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,CH_3 . CHOH . COOH$$

So einfach das in obiger Gleichung aussieht, so kompliziert scheint aber der Vorgang in Wirklichkeit zu verlaufen. Es scheint der Weg von der Hexose zur Milchsäure über Methylglyoxal und Glyzerinaldehyd zu führen, wie die von Wohl gebrachte Auffassung über diesen Vorgang ergibt.

Die Bakterienzymase ist sehr empfindlich für Säuren, ja auch für die selbstgebildete Milchsäure, die in einer Menge von 0,5—0,8% die weitere Gärung sicher hemmt.

2. Zymase.

Die alkoholische Gärung ist bei den Bakterien weniger verbreitet, wenn man davon absieht, daß eine sehr geringe Alkoholbildung auch in anderen Lebensprozessen ihre Usrache haben kann. Bei einigen Bakterienarten, wie einzelnen Milchbakterien, tritt aber eine beträchtliche Menge Äthylalkohol als Gärprodukt auf, die mitunter bis zu 3% erreicht. Aus diesem Grunde erscheint es gerechtfertigt, daß schon an dieser Stelle bei den Bakterienenzymen die alkoholische Gärung gebührende Berücksichtigung findet. Ohne auf die zwar interessante geschichtliche Entwicklung der alkoholischen Gärung einzugehen, können wir letztere den enzymatischen Vorgängen zuzählen, nachdem es den Bemühungen

Buchners gelungen ist, diesen Prozeß vom Leben der Hefezelle unabhängig mit Hefepreßsaft und toten Hefezellen einzuleiten. Wie wir schon bei der Besprechung der Gärungsenzyme im allgemeinen hörten, wird die alkoholische Gärung von zwei Enzymen durchgeführt, der milchsäurebildenden „Zymase" und einem die Milchsäure weiter vergärenden Enzym, der Lactazidase Buchners. Das Endprodukt der Vergärung der Milchsäure durch das letztgenannte Enzym ist erst Äthylalkohol und Kohlensäure. Eine Trennung beider Enzyme im Hefepreßsaft oder aus Fällungen desselben war bisher nicht möglich. Deshalb sollen im folgenden beide Enzyme gemeinsam abgehandelt und unter dem Ausdrucke „Zymase" beide Enzyme in ihrem natürlichen Zusammenhang gemeint sein. Es ist hier also eine weitere Fassung des Begriffes Zymase gegenüber der „Bakterienzymase" bei der eigentlichen Milchsäuregärung gewählt.

Die Zymase des Hefepreßsaftes ist eine sehr unbeständige Substanz, die im Saft schon nach wenigen Tagen ihre Wirkung verliert. In konzentrierter Rohrzuckerlösung und in getrockneten Hefezellen hält sie sich aber gut. Besonders wirksam bleibt sie in der sogenannten Dauerhefe, die Buchner im Verein mit Albert und Rapp durch Eintragen lebender Zellen in ein Alkohol-Äther-Gemisch, bzw. in Azeton, nachherigem Waschen mit Äther und raschem Trocknen gewinnen konnte.

Die Zymase erweist sich für viele physikalische und chemische Einflüsse als sehr empfindlich. Das Temperaturoptimum für ihre Wirkung liegt bei 28—30° C, die Zerstörungstemperatur bei 40—50° in Lösung, weit darüber für die trockene Zymase. Tiefere Temperaturen schädigen die Zymase nicht. Durch Gefrieren und Zersprengen der Zellen kann man sie sogar gewinnen.

Elektrische Ströme von geringer Intensität (0,042 Ampère, bei 110 Volt Spannung), wie sie Resenscheck auf Hefepreßsäfte angewendet hat, bewirken eine Steigerung des Gärvermögens der Flüssigkeit am negativen Pol, während am positiven Pol eine Herabminderung desselben eintrat. Diese Erscheinung dürfte ihren Grund vielleicht in einer Wanderung des Enzymes selbst und in elektrolytischen Umsetzungen der vorhandenen Salze ihren Grund haben. Länger dauernde Stromwirkungen setzen die Gärwirkung an beiden Polen beträchtlich herab.

Sensibilisatoren wie fluoreszierende Substanzen machen die Hefe und den Hefepreßsaft verschieden empfindlich für die sichtbaren Lichtstrahlen, wie aus den Untersuchungen Iamadas und Jodlbauers hervorgeht.

Harnstoff, Glykokoll und Phosphate fördern die Zymase in ihrer Wirkung, während sie durch die Sulfate von Na, NH_4 und Mg und durch Kalziumchlorid und Salpeter gehemmt wird.

Chloralhydrat und Chinin in kleinen Dosen fördern die Zymase, da sie die Tryptase ausschalten, die sonst in kurzer Zeit erstere zerstört. Das gleiche gilt für geringe Chloroformmengen. Alkohol bis etwa 15% wirkt kaum schädigend.

Harden und Young haben nun eine Art „spezifischen Aktivators" für die Zymase im gekochten Hefepreßsaft aufgefunden. Letzterer zeigte sich allein allerdings vollkommen unwirksam, besaß aber die Eigenschaft, das Gärvermögen des frischen Preßsaftes wesent-

lich zu heben und dessen Haltbarkeit zu erhöhen. Es scheint sich dabei nicht um ein Enzym zu handeln, obwohl der Körper als „Co-Enzym der Zymase" bezeichnet wird. Immerhin ist dieser Aktivator, dessen Natur wir noch wenig kennen, allem Anschein nach ein integrierender Bestandteil der Zymase, der bei der Gärung verbraucht wird. Er läßt sich von der Zymase durch Filtration durch ein Gelatinefilter trennen. Weder Filtrat noch Rückstand sind dann mehr wirksam; erst eine Mischung beider vergärt wieder im ursprünglichen Maße.

Der Sitz der Zymase ist in der Zelle selbst. Solange die Zelle lebt, werden höchstens Spuren derselben nach außen abgegeben. Die Hauptmenge aller vergärbaren Verbindungen muß bei der Gärung durch die lebende Zelle in dieselbe eintreten, und die Gärprodukte diffundieren wieder heraus, sofern sie in der Zelle nicht weiterverarbeitet werden.

Ganz allgemein können wir nach E. Fischer sagen, daß die Zymase nur Zucker mit sechs und neun Kohlenstoffatomen zu vergären vermag. Dabei spielt die sterische Beschaffenheit der Hexosen eine hervorragende Rolle. Von allen Aldosen sind vergärbar nur der Traubenzucker (d-Glykose), die d-Galaktose und d-Mannose. Unter den Ketosen kann nur die d-Fruktose als sicher vergärbar angesehen werden.

Durch die alkoholische Gärung entstehen aus Traubenzucker (oder überhaupt einem gärfähigen Zucker) Kohlensäure und Äthylalkohol nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_5OH + 2\,CO_2$$

Dazu ist zu bemerken, daß diese Aufstellung allerdings einer kleinen Einschränkung bedarf, da immer eine Reihe von Nebenprodukten entsteht, auf die später noch eingegangen werden soll.

Diese Reaktion verläuft über intermediäre Produkte, wie Methylglyoxal, Glyzerinaldehyd und Milchsäure. Dieselben werden aber im status nascendi rasch weiter vergoren, weshalb es nicht zur Anhäufung dieser Zwischenprodukte kommt. Diese Zwischenprodukte als fertige Verbindung sind selbst nicht gärfähig, wenigstens nicht für lebende Hefe. Jensen sieht dagegen als wesentliches Zwischenprodukt Dioxyazeton an, das er tatsächlich nachwies und das dann weiter in Alkohol und Kohlensäure vergoren wird. Ohne auf weitere theoretische Auseinandersetzungen des Gärungsprozesses einzugehen, können wir im allgemeinen sagen, daß bei der alkoholischen Gärung sicher eine Reihe von Zwischenprodukten entsteht. Daß die Gärung mit Hefepreßsaft in einigen Punkten andere Ergebnisse aufweist als mit den lebenden Hefezellen, hat wohl seinen tieferen Grund darin, weil im ersteren Falle alle Stoffe zur Zymase ungehinderten Zutritt haben, was bei der lebenden Zelle nicht der Fall ist. Die Nebenprodukte sind in beiden Fällen auch andere. Hier interessieren uns nur diejenigen der zellenfreien Gärung. Da sind vor allem zu nennen Essigsäure und Glyzerin, dann Ameisensäure und Formaldehyd.

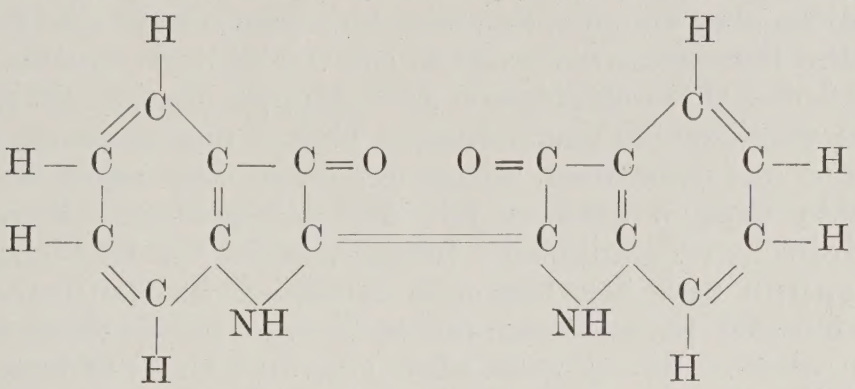
Es ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß die bakterielle alkoholische Gärung in derselben Weise verläuft und daß dabei homologe Enzyme tätig sind. Wir finden dort dieselben Gärhaupt-

produkte und Nebenprodukte. Allerdings kommt noch eine Reihe anderer Nebenprodukte dazu, die sich aber bei der durch lebende Hefezellen ausgelösten alkoholischen Gärung einstellen. Sie sind dort wie hier auf besondere Lebensprozesse zurückzuführen und verdanken ihr Entstehen nicht der Zymase.

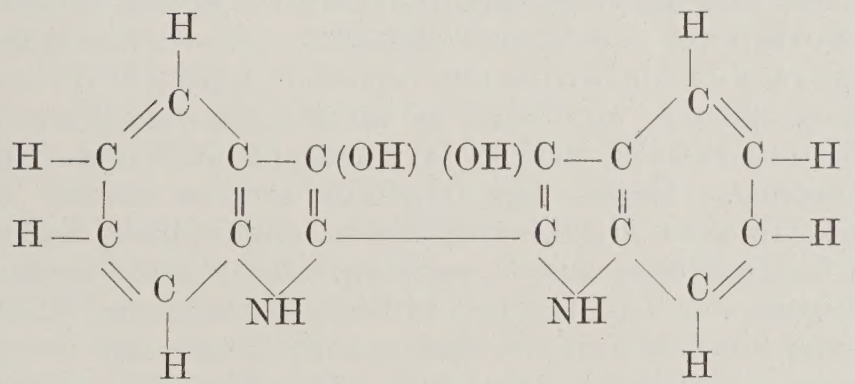
D. Reduktasen.

Im Leben der Zelle spielen sich eine Reihe von Reduktionsvorgängen ab, deren Verlauf vielfach an enzymatisch beeinflußte Vorgänge erinnert. Es liegt daher nahe, dafür besondere Enzyme anzunehmen, die man in der Gruppe der Reduktasen vereinigt.

Leicht reduzierbare Verbindungen, wie z. B. Methylenblau, den Nährsubstraten zugesetzt, werden beim Wachstum zahlreicher Bakterien in die Leukoverbindung umgewandelt. Das gleiche gilt für Indigoblau:



Indigoblau.



Indigoweiß.

Durch Schütteln mit Luft wird die entstandene Leukobase sofort wieder oxydiert. Manche Bakterienarten reduzieren auch den Kulturen zugesetztes selenigsaures und telurigsaures Natron. Es liegen auch Versuche mit durch Azeton abgetöteten Choleravibrionen und Colibazillen vor, die aber nur eine sehr schwache Reduktionskraft solcher Bakterienpulver ergeben haben.

E. Katalasen.

Auch bei Bakterien vermutet man Enzyme, welche das Wasserstoffperoxyd reduzieren und die man als Katalasen bezeichnet. Das Wasserstoffperoxyd zerfällt dabei in molekulären Wasserstoff und Sauerstoff:

$$H_2O_2 = H_2 + O_2.$$

Eine Aktivierung des molekularen Sauerstoffes findet aber durch die Katalasen nicht statt. Deshalb findet auch keine Bläuung von zugesetztem Guajakharz statt.

6. Bakterientoxine.

Die Bakterientoxine sind kompliziert gebaute Gifte von größter Wirksamkeit, die von der Bakterienzelle gebildet und entweder als Endotoxine in der lebenden Zelle zurückgehalten oder als Ektotoxine in das umgebende Substrat abgegeben werden. Sie sind mehr oder weniger thermolabil. Die meisten von ihnen werden schon durch Temperaturen um 60° C innerhalb kurzer Zeit zerstört. Eine Ausnahme bilden nur Toxine von Bakterien der Fleischvergiftung, die sich sogar als kochfest erwiesen. Eine Reindarstellung der Bakterientoxine ist bis jetzt nicht gelungen. Die Untersuchungen mit möglichst gereinigten Toxinen hatten aber ergeben, daß es sich dabei um keine Eiweißkörper handelt. Die Konstitution derselben soll nach Ehrlich u. a. so gedacht werden, daß das Giftmolekül eine Atomgruppe besitzt, die die Bindung mit den zu vergiftenden Verbindungen besitzt und einen zweiten Atomkomplex, der das eigentliche giftige Agens ist und seine Wirkung über die bindende Gruppe hinüber auf den angegriffenen Körper äußert. Der Ehrlichschen Terminologie folgend, heißt der Giftkomplex toxophore Gruppe und der bindende Komplex haptophore Gruppe. Wie die kolossale Giftwirkung dieser Toxine im wesentlichen erfolgt, wissen wir nicht. Soviel geht aber aus den Untersuchungen hervor, daß es Zellgifte sind, die eine ausgesprochene Spezifizität haben. Dieselbe erstreckt sich entweder auf bestimmte Tierarten oder auf bestimmte Zellen verschiedener Tierspezies. So erweist sich das Toxin des Erregers des Tetanus nur wirksam gegen Nervenzellen der verschiedenen Säuger, an denen es tatsächlich verankert wird. Das Toxin des Botulinusbazillus, des Erregers der Wurstvergiftung, verhält sich ebenso. Gegen das Diphterietoxin erweist sich wieder nur eine beschränkte Anzahl von Tieren empfindlich, während andere auf dessen Einverleibung nicht reagieren. Im Sinne der obigen Theorie der Konstitution der Toxine kann es seine Wirkung nur über die haptophore Gruppe hinüber äußern, die natürlich nur mit den Zellen oder Verbindungen eine Bindung eingehen kann, die entsprechende angreifbare Atomkomplexe aufweisen. Das Gift, bzw. die giftigen Atomkomplexe scheinen übrigens aus mehreren Komponenten mit verschiedener Giftigkeit zu bestehen. Der Tierkörper, dem Bakteriengifte einverleibt werden, reagiert bei nicht tödlicher Vergiftung durch Bildung von Gegengiften, Antitoxinen. Dieselben wirken wieder streng spezifisch gegen das sie verursachende Gift. In Konsequenz mit der obigen Auffassung müssen wir in den Antitoxinen von den tierischen Zellen gebildete und in die Blutbahn abgegebene Stoffe erblicken, die einen zur haptophoren Gruppe des Giftes passenden Atomkomplex aufweisen, so daß sie eine Bindung mit der haptophoren Gruppe des Toxins eingehen und so ein Zusammentreten mit den zu vergiftenden Zellen hintanhalten.

Die bisher besprochenen Toxine sind als spezifische Bakteriengifte zusammenzufassen, die man auch als Eigengifte der Bakterien bezeichnen kann. Sie sind wohl zu unterscheiden von den Stoffwechsel-

giften, die beim Wachstum aller Bakterien in mehr oder minder großer Menge gebildet werden. Es sind gewöhnlich Stoffwechselprodukte der Bakterienzelle, wie Kohlendioxyd, Ammoniak, Fäulnisalkaloide usw. Auch diese Stoffwechselgifte sind Zellgifte, entbehren aber die Spezifizität.

7. Bakterienfarbstoffe.

Die Reinkulturen einer großen Anzahl von Bakterien sind durch eine mehr oder weniger intensive Färbung ausgezeichnet. Dabei kann entweder nur der Bakterienrasen gefärbt sein, oder der gebildete Farbstoff durchdringt das ganze Nährsubstrat. Im allgemeinen bildet eine Bakterienart immer den gleichen Farbstoff, sofern es überhaupt zur Erzeugung desselben kommt. Dabei kann die Farbe selbst allerdings Variationen aufweisen, die hauptsächlich auf gleichzeitig in der Kultur entstehende saure oder alkalische Stoffwechselprodukte zurückzuführen sind. Die Farbstoffbildung selbst hängt von einer Reihe chemischer und physikalischer Faktoren ab. Dabei ist es einerlei, ob dieselben auch einen wachstumfördernden Einfluß ausüben oder nicht. Die bei den Bakterien vorkommenden Pigmente zeigen alle Farben des Spektrums und auch braun und schwarz.

Bei den meisten Bakterienarten ist in den Zellen selbst unter dem Mikroskop keine Spur des Farbstoffes zu beobachten. Sie erscheinen völlig farblos. Wohl aber können wir den gebildeten Farbstoff, sofern er in Wasser nicht löslich ist, bei der Untersuchung im hängenden Tropfen als größere und kleinere Krümeln und Bröckeln, die zwischen den Zellen liegen, nachweisen. Es sind auch kristallinische Farbstoffausscheidungen bekannt geworden, wie beispielsweise beim Bacterium polychromicum durch Zickes und Bacillus chlororaphis durch Guignard und Sauvageau.

Von einer Bakterienart wird entweder nur ein einziger Farbstoff gebildet oder aber mehrere, deren Auftreten voneinander ziemlich unabhängig ist. Hierin machen nur die Purpurbakterien eine Ausnahme, die immer gleichzeitig zwei verschiedene Farbstoffe erzeugen, einen roten und einen grünen. Allerdings scheint das Mischungsverhältnis beider ziemlich beträchtlichen Schwankungen bei den einzelnen Arten zu unterliegen, was sowohl aus spektroskopischen Untersuchungen als auch aus dem Aussehen des als „Bakteriopurpurin" bekannten Gemisches hervorgeht.

Für die Bildung der Pigmente mit Ausnahme des Bakteriopurpurins ist die Anwesenheit des freien Sauerstoffes der Luft unerläßlich. Es scheint, daß aber dazu schon niedrigere Sauerstoffdrucke hinreichen, als wie sie in der Luft herrschen. Außerdem müssen gewisse Verbindungen im Nährboden vorhanden sein, um eine möglichst günstige Farbstoffbildung der Bakterien zu ermöglichen. Es lassen sich da kaum allgemeine Angaben machen, vielleicht noch am ehesten über den Wert des Magnesiumsulfates für die Pigmentbildung. Letzteres ist im allgemeinen wohl für die allermeisten Bakterienarten bei der Farbstofferzeugung unerläßlich. Außerdem sind dafür wichtig Phosphorverbindungen, besonders das Dikaliumphosphat. Es zeigen aber auch hierin die Bakterien Unterschiede. So hat u. a. Sullivan durch seine Untersuchungen gefunden, daß die Bildung der roten und violetten

Pigmente abhängig ist von der Anwesenheit genügender Mengen $MgSO_4$ und K_2HPO_4. Eine Ausnahme macht der rote Farbstoff des Micrococcus roseus und des Micrococcus mycoides roseus, der nur in Gegenwart von Milchsäure erzeugt wird, was auch für das schwarze Pigment des Bacillus cyaneofluorescens gilt. Die Bildung der gelben Pigmente soll an die Anwesenheit von komplexen Polypeptidverbindungen (Peptonen) gebunden sein und durch $MgSO_4$ und K_2HPO_4 nur gefördert werden. Bezüglich der organischen Aminoverbindung kommt Sullivan zu dem Schlusse, daß für ihre günstige Ausnutzung zur Ernährung und Anregung zur Farbstoffbildung das Vorhandensein der Atomgruppen

$$C—O—O—H \text{ und } C=H_2$$

notwendig sei.

Von Einfluß ist auch die Reaktion des Nährsubstrates, da manche Farbstoffe bei saurer Reaktion nicht gebildet werden oder aber nicht in Erscheinung treten.

Von größtem Einfluß auf die Farbstoffbildung ist auch die Züchtungstemperatur. Im allgemeinen findet man die beste Farbstoffproduktion bei Temperaturen unterhalb des Temperaturoptimums für das Wachstum.

Die Farbstoffproduktion ist übrigens bei den Bakterien eine variable Eigenschaft, da bei einer und derselben Bakterienart unter gleichen äußeren Bedingungen häufig große Unterschiede in der Intensität der Farbe auftreten.

Wir dürfen auch mit Recht annehmen, daß zahlreiche Farbstoffe als Leukoverbindung aus der Zelle ausgeschieden und erst dann zur gefärbten Verbindung oxydiert werden.

Daß die Farbstoffproduktion in ursächlichem Zusammenhange mit der Einwirkung der dem weißen Tageslichte beigementgen ultravioletten Strahlen stehen soll, erscheint zumindest höchst fraglich und unwahrscheinlich.

Nach dem eventuellen Nutzen des Pigmentes für die Zelle selbst teilte Beijerinck die farbstoffbildenden oder chromogenen Bakterien in drei Gruppen ein. Die erste Gruppe, die „chromophoren Bakterien", umfaßt alle Bakterien, deren Farbstoff eine wesentliche Rolle im Leben der Zelle spielt, also als ein integrierender Zellbestandteil mit dem Protoplasma ungefähr so vereint ist „wie der Chlorophyllfarbstoff mit den Chromatophoren der höheren Pflanzen oder das Hämoglobin mit den Blutkörperchen", wie sich Beijerinck ausdrückt. Hierher gehören die Purpurbakterien, deren Farbstoff, das Bakteriopurpurin, tatsächlich im Leben der Zelle lebenswichtige Funktionen ausübt.

Die Vertreter der zweiten Gruppe der farbstoffbildenden Mikroben, die „chromoparen Bakterien", bilden Farbstoffe, die für das Leben der Zelle unwesentlich sind und einfach als nebensächliche Exkretstoffe aus der Zelle ausgeschieden werden. Allen neueren Forschungen entsprechend, müssen wir hierher **alle** farbstoffbildenden Bakterien mit Ausnahme der Purpurbakterien rechnen, da mit Ausnahme des Farbstoffes der letzteren alle Bakterienfarbstoffe keinen irgendwie gearteten Einfluß auf das Leben der sie erzeugenden Zellen

auszuüben vermögen. Sie sind rein zufällige Bildungen der Zellen, wie so manche andere.

Beijerinck stellt dann noch als dritte Gruppe der chromogenen Bakterien die „parachromophoren Bakterien" auf, deren Farbstoff von der Zelle teils nach außen abgegeben, teils in der Zellwand oder im Zellinnern deponiert bleibt. Nur wenige Vertreter dieser Gruppe gibt es, wie beispielsweise den Bacillus violaceus, der einen violetten Farbstoff erzeugt.

Wir tun besser, die Farbstoffe einfach in wasserlösliche und wasserunlösliche zu trennen. Letztere sind in überwiegender Mehrzahl bei den Bakterien zu finden. Viele von ihnen zeigen die von Zopf angegebene Lipozyaninreaktion. Dieselbe besteht darin, daß konzentrierte Schwefelsäure den roten oder gelben Farbstoff blau färbt. Man hat solche Farbstoffe allgemein als Lipochrome bezeichnet und reiht sie jetzt den „Karotinen" ein, die man nach Kohl in sauerstofffreie Eukarotine und sauerstoffhaltige Karotine sondert. Die Karotine sind in Alkohol und überhaupt fettlösenden Verbindungen, wie Äther, Benzol, Chloroform, Xylol usw., leicht löslich. Hierher gehören zahlreiche rote und gelbe Farbstoffe von Kokken und Bazillen und auch der rote Teilfarbstoff des Bakteriopurpurins.

Der rote Farbstoff des Bakteriopurpurins (Bakterioerythrin Archichovskijs) ist von Molisch genauer untersucht und vom grünen der Purpurbakterien getrennt worden. Wie schon gesagt, gehört nur der rote Farbstoff des Bakteriopurpurins im engeren Sinne des Wortes zu den Karotinen. Er kristallisiert aus Chloroform in kleinen und größeren Nadeln und Blättchen, die auch in Schwefelkohlenstoff und Äther leicht löslich, in Wasser und Glyzerin hingegen unlöslich sind. Auch in kaltem absoluten Alkohol sind sie nur schwer löslich. Molisch hat auch die Absorptionsspektren von Lösungen des Bakterienerythrins von Rhodobacillus palustris einer Untersuchung unterzogen, die ergibt, daß zwei deutliche Bänder auftreten, I. bei 585—555 und II. bei 540—515, zu denen noch ein drittes undeutlicheres kommt, dessen Lage etwa 500—485 entspricht. Aus einer geringen Verschiebung der Bänder ins Violett beim Bakterioerythrin aus einer Rhodospirillenart will Molisch auch auf die Verschiedenheit desselben bei Purpurbakterien schließen. Ich glaube, dieser Schluß ist schon deshalb gewagt, weil wir nach den vorliegenden spektroskopischen Befunden noch viel zu wenig über die feineren Absorptionserscheinungen wissen, um aus so geringfügigen Unterschieden der optischen Erscheinungen so weitgehende Schlüsse zu ziehen. Dazu sind wir erst berechtigt, wenn wir die Spektroskopie dieses Farbstoffes dadurch erschöpfend berabeitet haben, daß wir ihn bei verschiedenen Konzentrationen in verschiedenen Lösungsmitteln und außerdem noch bei verschiedenen Schichtdicken spektroskopieren. Außerdem ist die Herstellung der sogenannten Grenzverdünnung zur Erkennung aller Einzelheiten der Bänder unerläßlich. Dabei ist noch hervorzuheben, daß die Verdünnungen keineswegs durch verminderte Schichtdicken ersetzbar sind. Nur unter Berücksichtigung aller dieser Erscheinungen sind wir in der Lage, das Absorptionsspektrum eines Farbstoffes zu erhalten, das ihn spektroskopisch definiert und zu weiteren Vergleichen brauchbar ist, wozu die damit konstruierten Absorptionskurven be-

sonders wertvoll sind. Leider ist darauf bei der Spektroskopie der Farbstoffe des Spirillum rubrum, einer anderen Purpurbakterie, von Vahle ebenfalls keine Rücksicht genommen worden.

Zu den Karotinen sicher zu rechnen sind noch die Farbstoffe von Bacterium egregium, Bacterium chrysogloea, Micrococcus aureus, Sarcina aurantiaca und das gelbe, in Kristalldrusen ausgeschiedene Pigment von Bacterium polychromicum Zickes.

Es findet sich noch eine Reihe wasserunlöslicher Bakterienpigmente, die aber den Karotinen ferner stehen.

Das von Molisch aus Purpurbakterien ziemlich rein gewonnene Bacteriochlorin ist, wie schon der Name aussagt, ein grünes Pigment, das durch starken Alkohol aus den Purpurbakterien ausgezogen wird, wobei allerdings etwas Bakterioerythrin mit in Lösung geht. Es hat mit dem Chlorophyll nichts zu tun. Aus der etwas wasserhaltigen alkoholischen Lösung geht es durch Schütteln mit Benzin, Olivenöl, Terpentin und Chloroform heraus, und der Alkohol wird farblos. Spektroskopisch zeigt das Bakteriochlorin eine Endabsorption vom äußersten Rot bis λ 650 und vom äußersten Violett bis λ 525. Außerdem zeigt sich ein Absorptionsband (D-Streifen Molisch) von λ 610 bis λ 570. Der Farbstoff ist sehr unbeständig.

Dann ist hier vor allem zu nennen das prachtvoll rote Pigment des Bacillus prodigiosus, das Prodigiosin. Die Lösungen desselben in Alkohol, Chloroform, Äther, Benzol oder Schwefelkohlenstoff sind fuchsinrot. Säuren bewirken in den alkoholischen Lösungen einen Umschlag der Farbe ins Violettrote, während Alkalien eine gelbrote Verfärbung bewirken. Dabei findet keine Zerstörung des Pigmentes statt, da nach Neutralisation die ursprüngliche Farbe sofort zurückkehrt. Prodigiosin ist eine lichtunbeständige Farbe. Nach Griffths kommt ihm die Formel $C_{38}H_{56}NO_5$ zu, woraus sich ein Stickstoffgehalt von 2,3% berechnen läßt. Kraft fand einen solchen von 3,9%. Die Asche enthielt Na, Fe, Cl und P. Es gibt zahlreiche andere Bakterienarten, die ebenfalls rote Farbstoffe erzeugen, die in vielen Beziehungen dem Prodigiosin nahestehen, aber nicht identisch mit ihm zu sein scheinen.

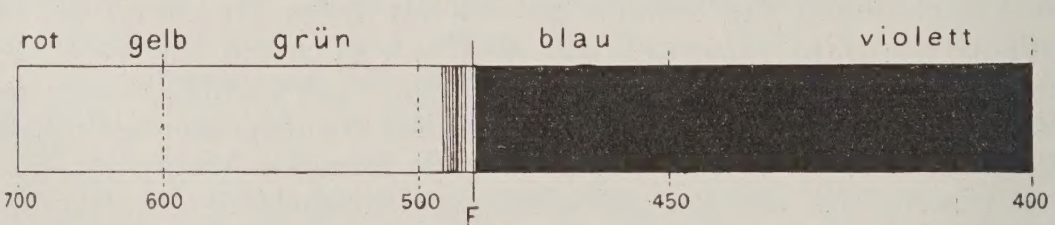


Fig 50.

Griffths untersuchte den orangeroten Farbstoff von Micrococcus glutinis in bezug auf sein chemisches und physikalisches Verhalten. Derselbe ist in Äther leicht, in Alkohol nur schwierig löslich. Die Elementaranalyse ergab 53,84% Kohlenstoff und 4,77% Wasserstoff; die Stickstoffbestimmung 4,57%. Griffths gibt dem Farbstoff die Formel $C_{14}H_{15}NO_7$, die annähernd auf die Analysenzahlen paßt. Die spektroskopische Untersuchung des Pigmentes in einer Konzentration von 10% in 10 mm dicker Schicht und ätherischer Lösung ergab vollständige Auslöschung von blau und violett von *F* ab und ein schmales Band diesseits der Fraunhoferschen Linie *F*, wie es

die Abb. 50 zeigt. Der Farbstoff erwies sich als optisch aktiv, denn er drehte das polarisierte Licht. Die ätherische Lösung vom spezifischen Gewicht 0,92 mit einem Gehalt von 2,02 g in 100 ccm Lösungsmittel ergab im Zweidezimeterrohr eine Drehung von —2,5° bei 17° C, was einem spezifischen Drehungsvermögen von

$$[\alpha]_D = -68^\circ\ 75'$$

entspricht.

Man könnte hier noch eine große Anzahl mehr oder minder genau untersuchter Farbstoffe der Bakterien anführen.

Es gibt dann noch einige Bakterienfarbstoffe, die weder in Wasser noch in Alkohol und in fettlösenden Mitteln löslich sind. So löst sich beispielsweise der gelbe Farbstoff des Micrococcus cereus nur in 10proz. Kalilauge, der ebenfalls gelbe Farbstoff des Bacillus luteus nach Garbowski nur in warmer konzentrierter Essigsäure oder starken, heißen Alkalien (20proz. KOH). Das tief indigoblaue Pigment der Pseudomonas berolinensis ist nur in Salzsäure löslich.

Von den in Wasser löslichen Farbstoffen sei zuerst ein fluoreszierendes Bakterienpigment, das Bakteriofluoreszein Lehmanns, genannt. Dasselbe findet sich bei zahlreichen Fäulnisbakterien. Das Bakteriofluoreszein ist nach Thumm eine gelbe, in Wasser lösliche Masse, die in fettlösenden Agentien vollständig unlöslich ist. Mit der Konzentration der Lösung ändert sich ein wenig der Farbenton derselben, denn verdünnte Lösungen erscheinen im durchfallenden Licht hellgelb, während konzentrierte orangegelb sind. Die Fluoreszenz der neutralen Lösung ist tiefblau. Sobald man spurweise ansäuert, erlischt die Fluoreszenz sofort und kehrt nach Neutralisation der Säure sofort wieder zurück. In schwach alkalischer Lösung fluoresziert das Pigment in blattgrüner und nach weiterem Alkalizusatz in moosgrüner Farbe. Die chemische Natur des Bakteriofluoreszeins ist noch nicht ermittelt.

Viele fluoreszierende Bakterienarten bilden neben dem Fluoreszein noch andere Farbstoffe. So erzeugt das Bakterium syncyaneum, ein Erreger der Blaufärbung der Milch, neben dem Fluoreszein noch einen wasserlöslichen blauen Farbstoff, das Syncyanin.

Auch vom Erreger des blauen Eiters, der Pseudomonas pyocyanea (oder aeruginosa) wird neben dem Fluoreszein noch mindestens ein zweiter blauer Farbstoff, das Pyocyanin, und wahrscheinlich noch ein dritter, braunroter, das Pyoxanthin, meistens erzeugt. Letzterer soll ein Oxydationsprodukt des Pyocyanins sein. Die chemische Zusammensetzung des Pyocyanins ist noch nicht sichergestellt. Ledderhose isolierte dasselbe aus Kulturen durch Ausschütteln mit Chloroform und stellte das pikrinsaure Salz desselben dar. Daraus bestimmte er als empirische Formel für diesen Farbstoff $C_{14}H_{14}N_2O$.

Es wurde noch eine Reihe von Bakterien bekannt, die andere wasserlösliche Farbstoffe bilden, von denen einige hier aufgeführt seien. So entwickelt das Bacterium erythrogenes, das Milch rot färbt, neben einem wasserunlöslichen Farbstoff ein rotes Pigment, das in den Nährboden diffundiert und diesen weinrot färbt.

Die von Weibel isolierte Microspira nigricans, eine aus Wasser

gezüchtete Bakterienart, bildet ein schwarzes Pigment, das den Nährboden dunkel färbt.

Das Bacterium brunneum bildet einen braunen Farbstoff, der ebenfalls den Nährboden dunkel färbt. Nach Thorpe kommt ihm die Formel $C_{18}H_{14}O_3$ zu. Er soll nach Pfeffers Angaben die Fähigkeit besitzen, Luftsauerstoff zu speichern.

Auch das von Zickes gefundene und untersuchte Bacterium polychromicum bildet neben dem schon genannten wasserunlöslichen Lipoxanthin einen blauen bis violetten, wasserlöslichen Farbstoff, das Erythrojanthin.

Diese wenigen Beispiele werden genügen, die große Verbreitung und Mannigfaltigkeit der Bakterienfarbstoffe darzutun.

8. Leuchten der Bakterien.

Eine große Anzahl von Bakterienarten vermag unter geeigneten Züchtungsbedingungen und in der freien Natur Licht zu entwickeln. In einfachster Weise kann man sich auf folgende Weise leuchtendes Bakterienmaterial verschaffen.

Wir legen ein Stück frischen Seefisches, wie es auf jedem Fischmarkt jetzt leicht erhältlich ist, samt der Haut, aber ohne Eingeweide, in eine Schale und übergießen dasselbe mit so viel einer 3proz. Chlornatriumlösung, daß das Fischstück noch ungefähr einen halben Zentimeter aus der Flüssigkeit hervorragt. Die Schale bedecken wir mit einer lose aufgelegten Glasplatte, um der Luft einigermaßen den Zutritt zu ermöglichen. Dann stellen wir die ganze Versuchsanordnung in einen kühlen Raum mit 4—6° C ins Dunkle, zumindest geschützt vor einer direkten Sonnenbestrahlung. Schon nach etwa 12—16 Stunden leuchten die Ränder des Seefisches im Dunkeln prachtvoll in einem grünlichen Licht. Die Lichtwirkung geht von Bakterien aus, die sich besonders an der Oberfläche der Salzlösung am Fischstück ansiedeln.

Die verschiedenen leuchtenden Bakterienarten vereint man in der physiologischen Gruppe der „Leuchtbakterien“ oder „Photobakterien“, unter denen wir Kugel-, Stäbchen- und Schraubenbakterien vertreten finden. Sie sind fast ausschließlich Meeresbakterien. Alle Leuchtbakterien leuchten nur unter gewissen Bedingungen. Im allgemeinen verlangen sie dazu in dem Nährsubstrat eine gewisse Menge von Salzen neben den notwendigen Nährstoffen und freien Luftsauerstoff; letzterer genügt in minimalen Quantitäten. Für alle Leuchtbakterien genügt zum Wachstum und zum Leuchten ein Kochsalzgehalt der Nährlösung von 2,5%. Er kann aber auch höher sein und bei einigen Arten ohne Schaden auf annähernd 6% steigen.

Für die Leuchtbakterien scheinen übrigens sowohl als Lichtnährmittel als auch als Nährmittel für das Wachstum im allgemeinen die Extraktivstoffe des Fleisches zu wirken. Für eine sich immer auf Nordseefischen einstellende Leuchtbakterienart kommen dabei nur jene Substanzen in Frage, die in einer Fleischabkochung nach Ausfällung mit Alkohol bei einem Gehalt von 80—85% des Fällungsmittels noch in Lösung bleiben. Es kann hier nicht auf diese Einzelheiten eingegangen werden; es soll damit aber gezeigt werden, daß die Leuchtbakterien äußerst genügsam sind. Einige brauchen zum Leuchten neben

Stickstoffquellen noch besondere Kohlenstoffquellen, von denen diejenigen wahrscheinlich die brauchbarsten sind, die nur wenig vergoren werden und daher wenig Säure liefern.

Eine für den Leuchtprozeß günstige Aufschließung des Nährbodens bewirken häufig gleichzeitig vorhandene, nicht leuchtende Bakterien, die sich in Rohkulturen von Photobakterien immer als Begleitbakterien einstellen. Wenn man dieselben für sich reinzüchtet, und dann auf die Reinzucht der Photobakterien einwirken läßt, so bemerkt man ein besseres Leuchten in ihrer Nähe. Folgender Versuch zeigt dies deutlich und klar, wie aus der Figur 51 zu entnehmen ist. In einer Petrischale wurde eine sterile Agarplatte gegossen, auf die zwei Impfstriche mit Leuchtbakterienreinkultur hergestellt wurden. Gleichzeitig wurde darauf durch die Mitte senkrecht auf die Leuchtbakterienimpfstriche ein Impfstrich mit der Begleitbakterie gemacht. Wo sich die Impfstriche kreuzen, gewahren wir das stärkste Leuchten. In der Figur 51 ist ein Photogramm abgebildet, das im eigenen Licht der Bakterien aufgenommen worden war. Wir sehen die weiß erscheinenden senkrechten Impfstriche in der Mitte am hellsten, wo der quer darauf gezogene Impfstrich sie rechtwinklig kreuzt. Die Auflagerung der Begleitbakterien erscheint nur wenig bemerkbar.

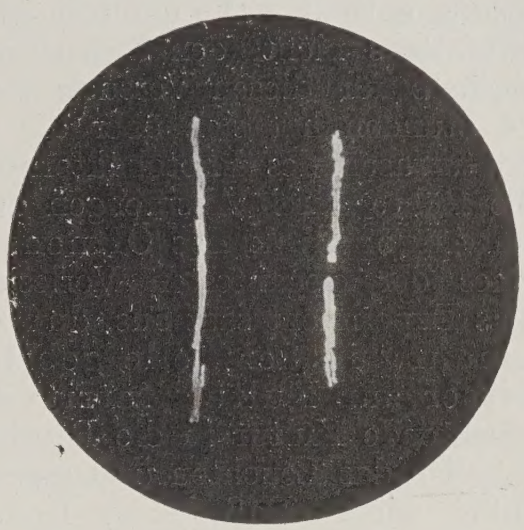


Fig. 51.

Alle Versuche, die mit Leuchtbakterien angestellt wurden, legen allerdings den Gedanken nahe, daß das Leuchten bei den Bakterien auf eine besondere Substanz, das Photogen, zurückzuführen ist. Dasselbe soll in der Zelle gebildet werden und leuchtet auch nur in der lebenden Zelle. Auch Versuche Geretsens, durch Bestrahlung von Kulturen mit ultravioletten Strahlen die Zellen der Leuchtbakterien zu töten, hatten nur das Ergebnis, daß im besten Falle wohl die Bakterien so weit geschädigt wurden, daß eine Abimpfung von solchen bestrahlten Kulturen erfolglos blieb, trotzdem noch ein kürzeres Nachleuchten derselben zu beobachten war. Ein Beweis für die Bildung und eventuell Speicherung eines besonderen Leuchtstoffes scheint damit aber keineswegs erbracht. Die Zellen können durch die intensive Bestrahlung allerdings so schwer geschädigt sein, daß sie sich nicht mehr vermehren und alsbald gänzlich getötet sind, ohne daß gleichzeitig alle Umsetzungen in der Zelle, also auch das Entstehen leuchtender Verbindungen, dauernd unterdrückt sein muß. Es war aber bisher nicht möglich, diesen hypothetischen Leuchtstoff von der Zelle zu trennen. Er ist als Produkt des lebenden Organismus aufzufassen, das für das Leben selbst kaum irgendwie in Betracht kommt. Die Leuchtbakterien verlieren in den Laboratoriumskulturen häufig bei sehr lange fortgesetzter Zucht auf den künstlichen Nährsubstraten das Leuchtvermögen dauernd, ohne daß im sonstigen Wachstum Hemmungen zu beobachten wären. Der Leuchtstoff muß in der Zelle als nicht leuchtende Verbindung fertig gebildet werden, die erst durch das

Hinzutreten des Luftsauerstoffes in minimalen Mengen zur Zelle sozusagen in die leuchtende Modifikation übergeführt wird. Dies zeigt deutlich folgender Versuch mit einer auf Nordseefischen regelmäßig vorkommenden Leuchtbakterienart, Pseudomonas photogena Fuhrmann. Diese Art wächst auch unter völligem Abschluß des Luftsauerstoffes in der zugeschmolzenen Buchnerschen Röhre. Die Kultur wird auf Fischfleischwasser-Agar mit 3% Chlornatriumgehalt regelrecht verimpft und sofort in die Buchnersche Röhre gegeben, die zur Entfernung des Sauerstoffes aus der eingeschlossenen Luft eine alkalische Pyrogallollösung enthält. Die dichtest sitzenden Kautschukstopfen genügen trotz Einfettens nicht, den Zutritt des Sauerstoffes gänzlich zu verhindern, weshalb für diesen Versuch die Röhre zugeschmolzen wird. In etwa 24 Stunden hat sich über die ganze Oberfläche ein nicht leuchtender Kulturrasen des Photobakteriums gebildet. Sobald man im Finstern die Röhre durch Absprengen der Verschmelzungsstelle öffnet, flammt im Augenblick des Öffnens die ganze Kultur auf. Es ist dies eines der elegantesten Vorlesungsexperimente mit diesen Bakterien. Das Experiment sagt aus, daß ohne Sauerstoff der Luft eine Verbindung in der Zelle gebildet wird, die erst leuchtet, wenn dieser zur Kultur Zutritt hat. Bringt man umgekehrt eine gut leuchtende Kultur in die Buchnersche Röhre, dann verschwindet allmählich das Leuchten und erscheint erst wieder, wenn Sauerstoff zugeführt wird. Daß beim Leuchtprozeß Sauerstoff verbraucht wird, zeigt auch der Versuch mit flüssigen Leuchtbakterienkulturen in dem langen, einseitig verschlossenen Glasrohr nach Molisch. Die Kultur leuchtet in der Röhre nur oben an der Berührungsstelle mit der Luft. Verschließt man das Rohr mit dem Finger und dreht es um 180°, so daß eine Luftblase durch die Kultur aufsteigt, dann leuchtet sie auf. Es dauert aber nur wenige Minuten bis zum Erlöschen des Lichtes, das erst wieder durch eine neue sauerstoffhaltige Luftblase ausgelöst wird. Wie schon gesagt, genügen zur Auslösung des Leuchtphänomens die denkbar geringsten Sauerstoffmengen. Bekommt die oben genannte, oben zugeschmolzene Buchnerröhre nur den kleinsten Sprung an der Abschmelzstelle, so leuchten die darin befindlichen Photobakterien sofort. Leuchtbakterien sind tatsächlich das feinste und empfindlichste Reagens auf freien Sauerstoff.

Auf das Leuchten der Bakterien wirken eine Reihe chemischer und physikalischer Einflüsse ein.

Freie Säuren beeinflussen den Leuchtprozeß schon in geringen Mengen sehr ungünstig. Eine neutrale oder schwach alkalische Reaktion ist dagegen außerordentlich günstig. Chloroform oder Äther behindert in größeren Mengen das Leuchten, während sehr geringe Mengen kaum schädlich wirken. Äthylalkohol wirkt in Dosen bis zu etwa 2% günstig auf die Lichtentwicklung. Erst sehr große Mengen (etwa 16—20%) bringen dieselbe dauernd zum Verschwinden.

Sehr abhängig ist die Lichtentwicklung von der Temperatur. Lange bevor eine Temperatur erreicht ist, die die Bakterien selbst tötet, erlischt das Licht. Wiederabkühlung bringt sofort das Leuchten wieder hervor, sofern die Erwärmung unter der Tötungstemperatur der Bakterien blieb. Die Lichtentwicklung erfolgt aber noch in sehr tiefen Temperaturen, bei denen die Kultur längst eingefroren ist.

Schätzungsweise leuchten die Bakterien noch bei etwa 30—40° unter Null. Läßt man Leuchtbakterienkulturen in flüssiger Luft einfrieren, so erlischt bei dieser tiefen Temperatur (— 190°) das Bakterienlicht, erscheint aber beim Auftauen wieder.

Andere Lichtquellen, Sonnenlicht usw. beeinflußt das Bakterienlicht anscheinend nicht. Übrigens wissen wir darüber wenig, da Spezialuntersuchungen darüber ausstehen.

Stoßwirkungen üben auf das Bakterienlicht ebenfalls keinen bemerkbaren Einfluß aus, desgleichen höhere Drucke.

Der elektrische Strom wirkt nur sekundär auf das Leuchten ein, indem bei dessen Durchtritt durch die Kultur elektrolytische Vorgänge ausgelöst werden, deren Produkte hinderlich oder fördernd in den Leuchtprozeß eingreifen.

Wir wollen gleich hier die Eigenschaften des Bakterienlichtes kurz erörtern.

Die Farbe des Bakterienlichtes variiert von bläulich-weiß bis gelblich-weiß, entsprechend der Ernährung und dem momentanen Zustand des Auges des Beobachters. Hat sich das Auge an Petroleumlicht, Auerlicht oder elektrisches Glühlicht gewöhnt, dann erscheint das Bakterienlicht mehr bläulich; kommt man aber aus Räumen, die vom Tageslicht oder elektrischen Bogenlicht erhellt sind, in die Dunkelkammer, dann erscheint das Bakterienlicht mehr reinweiß oder mit einem Stich

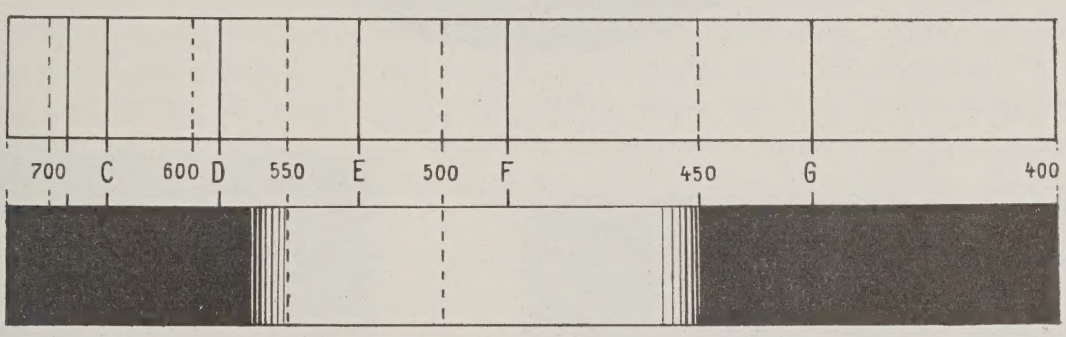


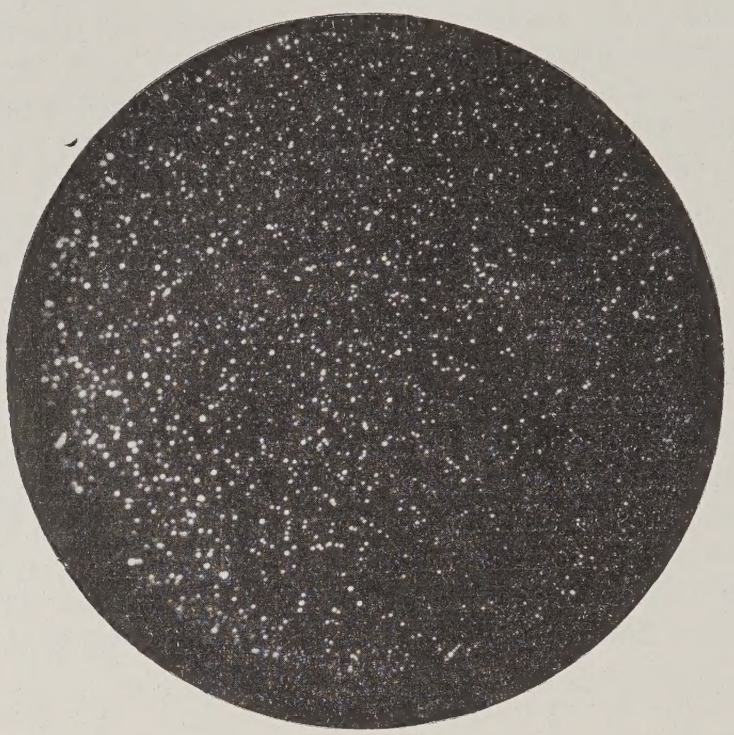
Fig. 52.

ins Gelbliche. Auf den Zustand des Auges hat übrigens schon Molisch aufmerksam gemacht. Das Licht der schon genannten Pseudomonas photogena ist übrigens immer stark bläulich, was man am besten an Massenkulturen in sehr verdünntem Fischfleischwasser, die im Halbdunkel gehalten werden, beobachten kann.

Das Licht der Bakterien ist ruhig, gleichmäßig, ohne irgendwie zu wallen.

Die Intensität des Bakterienlichtes mancher Arten ist so groß, daß man mit Hilfe einer kleinen Gelatinekultur sehr gut die Taschenuhr ablesen oder einen größeren Druck lesen kann. Das Licht der Photobakterien hat ein kontinuierliches Spektrum, das arm an roten und orangegefärbten Strahlen ist. Nach Molisch reicht das Spektrum bei subjektiver Beobachtung etwa von λ 570 bis λ 450. In Figur 52 ist unten das Spektrum von Bacterium phosphoreum nach Molisch wiedergegeben. Die obere Zeichnung entspricht dem Sonnenspektrum. Es sind einzelne Wellenlängen in $\mu\mu$ und die Frauenhoferschen Hauptlinien *C*—*G* eingetragen. Im Spektrum des Bakterienlichtes sicht man keine Linien und kann auch wegen der sehr geringen Lichtstärke des-

selben die Grenze des sichtbaren Teiles schwer exakt bestimmen. Jedenfalls reicht es weiter ins Dunkelblau und Violett hinaus: Schon die Empfindlichkeit der photographischen Bromsilberplatte für Bakterienlicht spricht dafür, da bekanntlich eine Gelatinebromsilberemulsion,



Fig, 53.

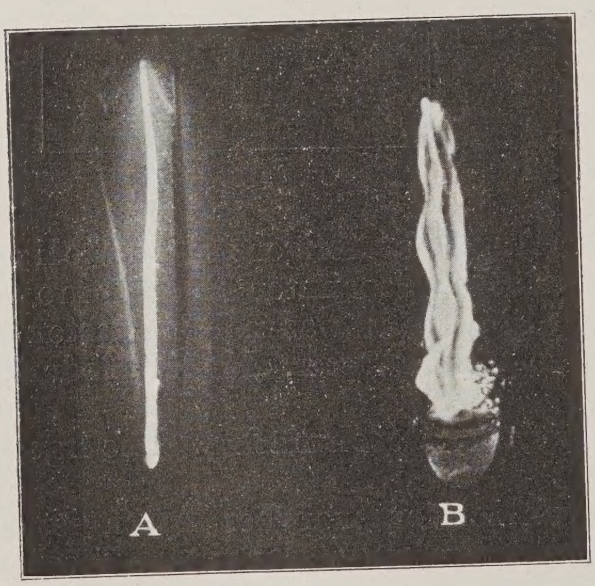


Fig. 54.

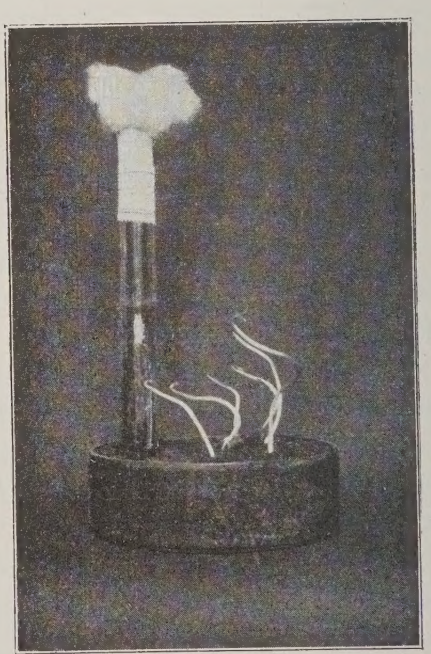


Fig. 55.

wie sie in der gewöhnlichen photographischen Platte vorliegt, ihr Empfindlichkeitsmaximum um 450 $\mu\mu$ Wellenlänge aufweist. Gerade dort erscheint das Spektrum des Bakterienlichtes schon sehr dunkel, wie aus den Angaben von Molisch hervorgeht. Wie empfindlich die photographische Platte für Bakterienlicht ist, geht daraus hervor, daß hinter

einem normalen Negativ mit einem kleinen Erlenmeyerkolben voll Bouillonkultur von Pseudomonas photogena auf einer photographischen Platte mittlerer Empfindlichkeit ein Positiv in 5—10 Sekunden gut ausexponiert ist.

Wir können die Leuchtbakterienkulturen auch im eigenen Lichte photographieren, wie es bei der Herstellung der Figur 53 und 54 geschehen ist. In der erst genannten Abbildung sehen wir die Bakterienkolonien als kleine, helle Pünktchen auf dunklem Grund. Außerdem können wir bei genauerem Zusehen noch weniger helle Punkte beobachten, die nicht leuchtenden Bakterienkolonien entsprechen. Es wurde einfach eine Gelatineplatte mit verunreinigtem Leuchtbakterienmaterial vom Seefische gegossen und nach dem Angehen der Kolonien in der Dunkelkammer ohne andere Lichtquelle photographiert. In der Figur 54 ist bei *A* das im eigenen Lichte hergestellte Photogramm einer Gelatinestrichkultur, in *B* einer Agarstrichkultur wiedergegeben. Hier sieht man auch ein wenig den von der leuchtenden Auflagerung erhellten Nährboden und teilweise die Konturen des Proberöhrchens. Wie Molisch gezeigt hat, kann man auch vom Bakterienlicht bestrahlte Gegenstände photographieren, wozu aber enorm lange Belichtungszeiten erforderlich sind.

Das Bakterienlicht ist auch physiologisch wirksam, wie aus zahlreichen Versuchen von Molisch mit Keimlingen und Clautriau mit Phycomyces nitens hervorgeht. Es löst an den besonders lichtempfindlichen Keimlingen einen Heliotropismus aus. Man verwendet zu diesen Versuchen 2—5 cm lange Keimlinge von der Erbse, Wicke oder Linse. In Figur 55 ist das Ergebnis eines solchen Versuches photographisch dargestellt. Dazu dienten Linsenkeimlinge, die in einem vollständig dunklen Keimbette zum Keimen gebracht wurden. Nachdem sie eine Länge von etwa 4—5 cm aufwiesen, wurde in das Keimbett wieder unter vollständigem Lichtabschluß eine gut leuchtende Agarstrichkultur von Pseudomonas photogena gebracht. Die früher vollständig lotrecht gewachsenen Keimlinge haben sich innerhalb 36 Stunden der leuchtenden Kultur zugebogen, wie es eben die Figur 55 erkennen läßt. Ein Ergrünen erfolgt aber nicht, was auch schon Molisch für seine Untersuchungen in dieser Hinsicht angibt.

---

4. Physikalische Eigenschaften der Bakterienzelle.

A. Spezifisches Gewicht.

Das spezifische Gewicht der lebenden Bakterienoidien dürfte wohl in allen Fällen größer als 1 sein. Natürlich kann man nicht unmittelbar vom spezifischen Gewicht des Kulturrasens auf dasjenige der ihn zusammensetzenden Zellen schließen, da er neben Bakterienzellen noch eine Reihe anderer Stoffe enthält. Für Kulturrasen auf Agarnährböden liegt eine Anzahl von Bestimmungen des spezifischen Gewichtes von Stigell vor, aus denen eine kleine Auswahl hier wiedergegeben sei.

	Alter der Kultur	
	80 Tage	40 Tage
Vibrio aquatilis	1,315	1,274
Sarcina flava	1,164	1,177
Bacillus acidi lactici	1,138	1,141
Bacillus prodigiosus	1,245	1,177
Bacillus butyricus Hueppe . . .	1,135	1,219
Bacillus subtilis	1,120	1,134

Aus obiger Zusammenstellung geht schon die Verschiedenheit der spezifischen Gewichte von Kulturrasen verschiedenen Alters einer und derselben Bakterienart und gleichen Alters verschiedener Bakterienarten hervor. Die Oberflächenhäutchen auf Nährbouillon ergaben Werte unter 1. Wieder anders verhalten sich in dieser Hinsicht die in flüssigen Kulturen auftretenden Bodensätze.

Rechnerisch ergab sich nach Stigelli für das spezifische Gewicht der vegetativen Zelle von Pseudomonas pyocyanea 1,057.

Das spezifische Gewicht der Bakteriensporen ist im allgemeinen viel größer als dasjenige der vegetativen Zellen. Almquist bestimmte dasselbe für die Sporen des Bacillus subtilis (Heubazillus) mit 1,35—1,40. Er benützte dazu die Schwebefähigkeit der Sporen in einer Salzlösung von dem gleichen spezifischen Gewicht der Sporen.

B. Lichtbrechungsvermögen.

Das Lichtbrechungsvermögen der vegetativen Bakterienzelle ist, abgesehen von besonders stark lichtbrechenden Einschlüssen, gering. Ein stärkeres Lichtbrechungsvermögen besitzt im allgemeinen die Zellhaut der Bakterien. Übrigens verhalten sich die Bakterien in dieser Hinsicht etwas verschieden. Besonders auffallend ist das große Lichtbrechungsvermögen der Membran des Anthraxbakteriums, das noch höher ist als das flüssiger Karbolsäure, der ein Brechungsindex von 1,55 zukommt. In Karbolsäure eingeschlossen zeigen die Anthraxbakterien aus diesem Grunde noch die Konturen ihrer Zellhaut, obwohl das Zellinnere nicht mehr sichtbar ist. Die Bakteriensporen besitzen ein außerordentlich großes Lichtbrechungsvermögen. Sie erscheinen deshalb grünlich glänzend, wie Fetttröpfchen.

C. Osmotischer Druck.

Die Bakterienzelle stellt, wie die Zelle der höheren Pflanzen, ein osmotisches System vor, das im wesentlichen aus einer protoplasmatischen Grenzschicht besteht, die der Zellwand anliegt, und aus einem oder mehreren innen im Protoplasma liegenden Safträumen. Außerdem muß die äußere Grenzschicht zwar eine unbegrenzte Durchlässigkeit für Wasser, aber eine beschränkte für die im Wasser gelösten Verbindungen (Salze usw.) besitzen. Die Zelle kann nur als osmotisches System wirken, wenn sie sich in Wasser oder wässerigen Lösungen befindet, was ja bei Bakterien immer zutrifft. Mit Alfred Fischer können wir sagen:

„Das Wesen des osmotischen Zellsystems beruht also darauf, daß in das Lösungsmittel Wasser eine von Wasser durchsetzte Blase (der Protoplasmaschlauch) eingetaucht ist und daß diese Blase eine Lösung verschiedener Stoffe umschließt, die nach Diffusionsgesetzen in das umgebende Wasser sich ausbreiten möchten, daran aber durch die mehr oder weniger große Impermeabilität der Blase verhindert werden."

Auf diese Weise entsteht im Innern der Zelle ein Druck, der osmotische Druck, der abhängig ist vom Grade der Impermeabilität oder Undurchlässigkeit der Grenzschichte für die druckerzeugenden gelösten Verbindungen und von der Menge und Qualität der letzteren. Die Summe aller dieser von den verschiedenen Stoffen im Innern der Zelle erzeugten Teildrucke oder Partiardrucke ist die Größe des osmotischen Druckes. Dieser Druck lastet auf der Zellwand, die also als resistente Stütze des Protoplasten aufzufassen ist. Die lebende Zelle befindet sich normal ständig in einem solchen Spannungszustande, den man als ihren Turgor bezeichnet. Die Größe des Turgors ist also gleich der Größe des osmotischen Druckes, der in toto gemessen oder für jeden gelösten Stoff auch einzeln bestimmt werden kann.

Man hat nun festgestellt, daß z. B. eine $^1/_{10}$ normale Kalisalpeterlösung auf eine für dieses Salz impermeable Wand einen Druck von 3,5 Atmosphären ausübt. Die physikalische Chemie lehrt uns weiter, daß alle äquimolekularen Lösungen der Alkalisalze einbasischer Säuren den gleich großen osmotischen Druck entwickeln, also in $^1/_{10}$ Normal- oder Molekularlösungen 3,5 Atmosphären; denselben Druck erzeugen 0,075 normale Lösungen von Alkalisalzen mit zweibasischen Säuren und 0,15 normale Lösungen von organischen Substanzen ohne Metall. Man bezeichnet alle gleich osmotisch wirksamen Lösungen als isosmotisch oder isotonisch; werden zwei Lösungen mit verschiedenem osmotischen Druck miteinander verglichen, so heißt diejenige mit größerer osmotischer Wirksamkeit hyperosmotisch oder hypertonisch gegenüber jener mit geringerem osmotischen Druck, die als hypotonisch oder hyposmotisch anzusprechen ist.

Da sich die Bakterien stets in osmotisch wirksamen Lösungen befinden, so wird auch von außen her auf die Zellwand ein gewisser Druck herrschen, dessen Größe wieder der Summe der Partiardrucke der einzelnen gelösten Stoffe entspricht. Normal werden außen immer niederere Drucke herrschen als im Innern der Bakterienzelle. Die Druckgröße wird also im Innern das positive Vorzeichen aufweisen.

Wenn nun der umgekehrte Fall eintritt, indem die Bakterienzellen plötzlich in eine hyperosmotische Lösung gebracht werden, so entsteht im Innern ein negativer Druck, der sich dadurch bemerkbar machen wird, daß der Protoplast von der Zellwand abrückt und unter Wasserabgabe sich zusammenzieht. Diese Schrumpfung geht so lange weiter, bis durch die Wasserabgabe die Konzentration im Innern so groß geworden ist, als dem außen wirkenden osmotischen Druck entspricht. Man bezeichnet diese Zusammenziehung des Protoplasmas als Plasmolyse, weil sich dabei dasselbe von der Zellwand abhebt.

Man kann nun mit Hilfe der Plasmolyse den osmotischen Innendruck bei allen plasmolysierbaren Bakterien messen. Diese Messungen ergeben

sehr große Werte für den Turgor. Nach A. Fischer besitzt der Choleravibrio bei der Zucht auf Nähragar, dessen Stoffe selbst den osmotischen Druck einer 0,04-Normal-Chlornatriumlösung aufweisen, einen Turgor von 1,4—2,1 Atmosphären, was auf 1 μ^2 Wandfläche 0,018 Milligramm ergibt.

Die osmotisch wirksamen Lösungen verhalten sich gegenüber den Bakterien verschieden. Hyperosmotische Lösungen werden die Bakterienzellen nur dann plasmolysieren können, wenn der Protoplast für sie einen gewissen Grad von Impermeabilität oder Undurchlässigkeit besitzt. Ist dies nicht der Fall, ist die Zelle für den betreffenden Stoff also vollkommen permeabel oder durchlässig, dann wird jede plasmolytische Erscheinung ausbleiben. Der Stoff geht ungehindert durch die Zelle hindurch. Irgendeine Beeinflussung des Innendruckes ist daher ausgeschlossen. Die Impermeabilität der Zelle für gewisse Stoffe ist aber keine konstante Eigenschaft; auch die Größe derselben unterliegt nennenswerten Schwankungen, die im Alter der Zellen und in ihrer Ernährung ihren hauptsächlichsten Grund haben. Auch das Zurückgehen der Plasmolyse nach einiger Zeit beim längeren Verweilen der Bakterienzellen in hyperosmotischen Lösungen ist auf ein Nachlassen der Impermeabilität zurückzuführen. Es liegt hierin eine große Anpassungsfähigkeit der Mikroorganismen an Konzentrationsänderungen in den sie umgebenden Lösungen. Dadurch sind sie auch in der Lage, trotz plötzlich eingreifender starker Konzentrationsänderungen ihr Protoplasma vor zu großen Außen- und Innendrucken bis zu einem gewissen Grade zu schützen. Dies gilt besonders für den plötzlichen Übergang von Zellen aus hyperosmotischen in hyposmotische Lösungen. Sind die Unterschiede zu groß, dann findet allerdings mitunter eine Zerreißung des Protoplasten innerhalb der Zellmembran statt, die zum Tode führt.

Wenn wir die verschiedenen Bakterienarten auf ihre Plasmolysierfähigkeit prüfen, so finden wir, daß zwei große Gruppen derselben bestehen. Wir können dieselben mit A. Fischer als permeable Bakteriengruppe und impermeable Bakteriengruppe bezeichnen.

Die Vertreter der permeablen Bakteriengruppe erweisen sich als völlig durchlässig für die Lösungen anorganischer Salze, Zucker und anderer Verbindungen. Sie lassen sich also überhaupt nicht mit den bekannten Hilfsmitteln plasmolysieren. Sie besitzen trotzdem einen Turgor, der aber auf uns derzeit noch unbekannte, osmotisch wirksame Stoffe zurückzuführen ist. Als typischer Vertreter dieser Gruppe ist das Bacterium anthracis anzusehen. A. Fischer gibt noch eine Reihe anderer Bakterienarten an, die ebenfalls nicht plasmolysierbar sind.

Die Vertreter der impermeablen Bakteriengruppe lassen sich mehr oder minder leicht in hyperosmotischen Salzlösungen plasmolysieren. Der Hauptrepräsentant dafür ist der Vibrio der asiatischen Cholera, dann das Spirillum volutans und eine große Anzahl anderer Bakterien, wie A. Fischer ermittelte.

Es gibt auch eine Reihe osmotisch wirksamer Stoffe, die aber bei den Bakterien keine Plasmolyse auszulösen vermögen. Es sind dies vor allem Glyzerin, Chloralhydrat, Harnstoff und Antipyrin. Für sie ist die Bakterienzelle total durchlässig oder permeabel.

Die Gesetze der Plasmolyse, die für die Zellen der höheren Pflanzen gelten, sind für die Bakterienzelle nur mit kleinen Einschränkungen gültig, da hier die Verhältnisse doch etwas anders liegen. Die aus Zellulose bestehende Membran der Zelle höherer Pflanzen kann als total permeabel für die verschiedenen Lösungen gelten; die nicht nur aus Zellulose aufgebauten Zellwände der Bakterien scheinen sich insofern etwa anders zu verhalten, als Schwermetallsalze und besonders Jodlösungen von Bakterienzellwänden mehr oder minder stark zurückgehalten werden.

Gerade die osmotischen Verhältnisse bei den Bakterien sind für die richtige Erkenntnis und praktische Beurteilung von Gärungsvorgängen sehr wichtig, da ja die Gärsubstrate hochosmotisch wirksame Lösungen sind, was bei der Anstellung des Gärgutes nicht außer acht gelassen werden darf.

D. Bewegung der Bakterien.

Bewegung ist wohl eine der sinnfälligsten Erscheinungen des Lebens. Der gesamte Stoffwechsel ist, physikalisch betrachtet, eine ständige Bewegung der Materie, der verschiedenen Verbindungen der Zelle. Diese Bewegungsvorgänge zeigen sich am augenfälligsten beim Wachstum der Zelle vor und nach der Teilung. Es sei hier von den Bewegungen kleinster Teile im Protoplasma abgesehen und nur auf jene Bewegungserscheinungen hingewiesen, die mit einer Ortsveränderung der Zelle im Substrat verbunden sind.

1. Passive Bewegung.

Die passiven Bewegungen der Bakterien können nicht als Lebensäußerung aufgefaßt werden. Sie kommen dadurch zustande, daß bestimmte physikalisch-chemische Wirkungen von seiten der Umgebung auf die Zellen ausgeübt werden, die zu einer Ortsveränderung der Bakterien führen. Dabei ist es einerlei, ob die Umgebung auf die Zelle als Ganzes wirkt oder nur auf bestimmte Teile derselben. Die wichtigsten dieser passiven Bewegungen sind a) die Brownsche Molekularbewegung, b) die Turgeszenzbewegung und endlich c) die Quellung.

a) Brownsche Molekularbewegung.

Der englische Botaniker Brown hat schon im Jahre 1827 auf passive Bewegungen von kleinsten in Flüssigkeitstropfen suspendierten Teilchen hingewiesen. Nach ihm wurde diese Bewegung eben Brownsche Bewegung benannt. Sowohl lebende als auch tote Bakterien, in Flüssigkeiten aufgeschwemmt, zeigen diese Bewegung sehr lebhaft, sofern die Größe der Zellen 4 μ nicht überschreitet. Je kleiner die Bakterien sind, um so besser zeigt sich das Phänomen. Die Bakterien führen dabei zitternde und zuckende Bewegungen aus, die nur langsam zu einer Fortbewegung einzelner Zellen führen.

Man erklärt sich diese Bewegung als eine Art fortschreitender Molekularbewegung. Die die Zellen umgebenden Flüssigkeitsmoleküle üben infolge ihrer Wärmebewegung auf dieselben eine übergroße Anzahl von Stößen aus und übertragen so auf die Zellen Wärmeenergie. Die Flüssigkeitsmoleküle weisen nun alle möglichen Geschwindigkeiten auf. Trifft

nun ab und zu ein Flüssigkeitsmolekül mit besonders hoher Geschwindigkeit auf die Zelle, so erhält sie einen so starken Impuls, daß die dadurch hervorgerufenen Bewegungen mikroskopisch sichtbar werden. Trotz des dauernden Zitterns der Zelle wird sie jedoch nur sehr langsam und in vollkommen unregelmäßigen Bahnen in der Flüssigkeit bewegt. Man kann bei der Brownschen Bewegung daher in erster Linie das Hin- und Herpendeln oder Oszillieren der Bakterien beobachten und dann auch eine, wenn auch weniger ausgesprochene translatorische Bewegung feststellen.

Abgesehen von der Wichtigkeit der Ursachen und des Wesens der Brownschen Molekularbewegung für die Bestimmung der Größe der Moleküle und die scharfe Auffassung des zweiten Hauptsatzes der mechanischen Wärmetheorie hat dieselbe besonders noch eine große Bedeutung für die Theorie der Diffusion und den damit verwandten Erscheinungen der Osmose.

b) Turgeszenzbewegung.

Unter Turgeszenzbewegung kann man alle jene Bewegungsvorgänge zusammenfassen, die ihre Ursache in Änderungen der Turgeszenz der Zelle, also in letzter Linie in osmotischen Schwankungen, haben. Die dazu notwendigen osmotischen Druckschwankungen können durch Einflüsse von außen her oder durch Konzentrations- und Qualitätsänderungen löslicher Zellbestandteile im Innern herbeigeführt werden. Die Zelle als osmotisches System hat unter der Zellhaut eine semipermeable Plasmagrenzschicht, die sowohl die Aufnahme des Lösungsmittels Wasser als auch den Durchgang der verschiedenen gelösten Verbindungen reguliert. Es wird sich daher ständig eine Plasmabewegung und Zellsaftströmung einstellen, die zu Turgeszenzbewegungen Veranlassung gibt.

c) Quellung.

Für die Quellung ist die Fähigkeit gewisser Stoffe ursächlich, Wasser zwischen den Molekülgruppen einzulagern und dort festzuhalten, so daß die Moleküle förmlich auseinandergetrieben werden. Dadurch kommt es zu einer Vergrößerung der Zelle oder einzelner Inhaltsstoffe derselben, die man aber nicht mit dem Wachstum der Zelle verwechseln darf. Am besten zeigen die Quellung Sporen vor der Keimung oder eingetrocknete Bakterien. Letztere, selbst wenn sie ganz geschrumpft waren, nehmen, in Wasser gebracht, ihre ursprüngliche Größe und Form alsbald wieder an. Bei den Sporen werden die Quellungsdrucke so groß, daß es zu einem Zerreißen der Membran kommt und der Austritt des Keimstäbchens erfolgt.

2. Aktive Bewegung.

Viele Bakterienarten zeigen eine ausgesprochene Eigenbewegung, d. h. sie führen mit Hilfe besonderer Organellen, Geißeln, in der Flüssigkeit Ortsveränderungen aus. Es gibt aber auch gewisse Fadenbakterien, welche gleitende Bewegungen auf der Unterlage vollführen, ohne daß an ihnen irgendwelche Geißelfäden oder Bewegungsorganellen nachgewiesen werden können. Man kann daher zwischen der Geißelbewegung und der Gleitbewegung der Bakterien unterscheiden.

a) Geißelbewegung.

Die Art und Weise der Fortbewegung ist nun abhängig von der Stellung der Geißeln am Bakterienkörper und von der Form des letzteren. Die Form spielt dabei aber nur eine untergeordnete Rolle. Wenn wir die Bakterien in ihrer Bewegung betrachten, so finden wir bei ihnen entsprechend ihrer Begeißelung verschiedene Bewegungsbahnen, die sie zurücklegen. Am auffallendsten ist die Bewegungsbahn der Vibrionen oder Kommabazillen. Sie bewegen sich in gekrümmten Bahnen, so daß sie während der Bewegung dem Beobachter fortwährend verschwinden und gleich darauf wieder vor die Augen kommen. Robert Koch hat die Bewegung dieser Bakterien sehr treffend mit derjenigen eines tanzenden Mückenschwarmes verglichen. Ganz anders bewegen sich die verschiedenen Stäbchenbakterien, die an einem Pole ein Büschel von Geißeln tragen. Gewöhnlich fahren sie entweder in geraden Linien durchs Gesichtsfeld oder ihr Körper pendelt dabei anscheinend hin und her. Letzteres beobachtet man besonders häufig an den beidpolig begeißelten Stäbchenbakterien.

Einen besseren Einblick in die Art der Bewegung und in die Funktion der Geißeln selbst gewinnen wir, wenn wir sie mit Hilfe der Dunkelfeldbeleuchtung im Ultramikroskop in der Tätigkeit beobachten. Reichert hat eine große Anzahl solcher Untersuchungen ausgeführt und kam dabei zu einer Reihe von Ergebnissen über die Natur der Bakterienbewegung, die im folgenden kurz wiedergegeben seien: im allgemeinen kommt die Bewegung dadurch zustande, daß um die Geißel herum fortwährend Kontraktionslinien laufen. Die Geißel selbst ist in der Bewegung immer eine rechtsläufige Schraube, wobei zu bemerken ist, daß die Orientierung so zu verstehen ist, daß der Beobachter der Geißel nachblickt. In diesem Falle muß ein Punkt, der sich auf der Geißelschraube vom Beobachter wegbewegt, von links über oben nach rechts über unten weitergehen, also im Sinne des Uhrzeigers. Für die linksläufige Schraube gilt das Umgekehrte. Die durch die Kontraktion ausgelösten Kräfte bewirken eine Rotation der Geißel, durch die die Bakterienzelle entweder weitergeschoben oder nachgezogen wird. Im letzteren Falle geht also die Geißel voran. Außerdem greifen die wirksamen Kräfte auf die Zelle noch insofern an, als Drehungen der Zelle zustandekommen. Die Krümmungshöhe der Geißelschraube ist ebenfalls bedingt durch die Schnelligkeit der aufeinanderfolgenden Kontraktionsimpulse. Von ihnen hängt natürlich auch die Geschwindigkeit der Fortbewegung der Zelle ab. Ganz allgemein gelten diese Gesetze für alle Bakterienbewegungen, die durch Geißeln hervorgebracht werden, einerlei, ob nur eine polare Geißel vorhanden ist oder viele Geißeln um die Zelle herum.

Im einzelnen liegen die Verhältnisse bei den Schraubenbakterien folgendermaßen: Die Vibrionen, also Bakterien, deren Körper nur Teile eines Schraubenumganges ausmachen, besitzen meist nur eine sehr starke Geißel an einem Pole, die ständig vom Körper in seiner Verlängerung weggestreckt getragen wird. Hier geht in der Bewegung die Geißel entweder voran oder wird nachgeschleppt. Da es sich bei der Geißel um eine rechtsgewundene Schraube handelt, so muß im erste-

ren Falle die Kontraktionslinie links herum verlaufen, in letzterem rechts. Der Körper selbst wird dabei jederzeit in eine Linksrotation um seine Achse während der Bewegung versetzt.

Die Spirillen besitzen im allgemeinen ein polares Büschel von rechts gewundenen Geißelfäden, die während der Bewegung zum primären Geißelzopf zusammengelegt werden. Derselbe wird aber ständig nachgeschleppt, einerlei, ob der begeißelte oder nicht begeißelte Pol der Zelle vorangeht. Man beobachtet bei der Umkehrung der Bewegung keine Wendung der ganzen Zelle, sondern nur ein momentanes Stillstehen der Zellen und dann die Rückbewegung, bei der der früher vorangegangene Zellpol jetzt nachgezogen wird. Im Augenblick der Umkehr der Bewegung wird der Geißelzopf nach vorne geschlagen und rotiert wieder rechtsläufig, der Bakterienkörper links herum um seine Achse. Folgende Figur 56, die nach Reichert entworfen ist, veranschaulicht diese Verhältnisse. Die geraden Pfeile geben die Bewegungsrichtung der Zelle an, die runden punktierten die Rotationsrichtung des Bakterienkörpers während der Fortbewegung und die voll ausgezogenen runden Pfeile

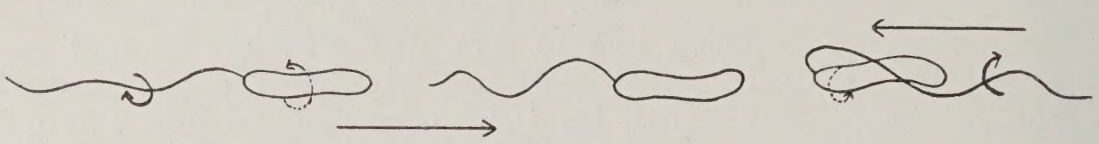


Fig. 56.

die Drehungsrichtung der Geißeln. Hier wie bei den Vibrionen umschreiben die Geißeln nach hinten offene Hohlkörper, deren Spitzen im Insertionspunkte der Geißeln liegen.

Die Bewegungserscheinungen bei den polar begeißelten Stäbchenbakterien (Pseudomonasarten) liegen etwa in der Mitte zwischen denjenigen der Schraubenbakterien und denjenigen der Vibrionen. Bei ihnen wird in der Bewegung der Geißelzopf in der Regel nachgezogen; seltener geht er voraus. An diesen Bakterien beobachten wir meist sogenannte „Trichterbewegungen" des Körpers, die auf die „Querkomponenten" der an der Geißel wirkenden Kräftepaare zurückzuführen sind. Diese Querkomponenten wirken senkrecht auf die Achse der Zellen ein. Nach Reichert können wir die an den polarbegeißelten Stäbchenbakterien auftretenden Nebenbewegungen bei dem Vorwärtsgleiten kurz folgendermaßen skizzieren: „Bei den polarbegeißelten Bakterien findet bei der Vorwärtsbewegung stets Drehung des Körpers in seiner Längsachse statt. Dabei kann die Längsachse:

1. in der Bahn der Vorwärtsbewegung verbleiben;
2. um die Bahn als Achse rotieren, so daß sie dieser stets parallel bleibt;
3. ebenfalls um die Bahn als Achse rotieren, sie bleibt derselben jedoch nicht parallel:
   a) das vordere Ende der Längsachse weicht mehr von der Bahn ab als das hintere,
   b) das hintere weicht mehr ab als das vordere,
   c) beide Enden bleiben gleichweit von der Bahn entfernt."

In Figur 57 ist der Versuch gemacht, die eben erläuterten Verhältnisse schematisch darzustellen. In 1 dieser Abbildung verbleibt die

Längsachse des sich bewegenden Bakteriums in der Bewegungsbahn x—x', wobei es sich in der Pfeilrichtung bewegt. Es fällt also die Bakterienlängsachse mit der Bewegungsbahn ständig zusammen. Bei 2 verläuft die Längsachse des Stäbchens (gestrichelt gezeichnet) mit der Achse der Bewegungsbahn (x—x') parallel. In 3 endlich ist die Stäbchenachse (ebenfalls gestrichelt gezeichnet) zur Bewegungsbahnachse geneigt. Es geht in diesem Falle die Achse der Bewegungsbahn stets durch einen gleichen Punkt der Stäbchenbakterie, der irgendwo in der Längsachse derselben liegt. Je nach der Lage desselben wird das vordere Ende

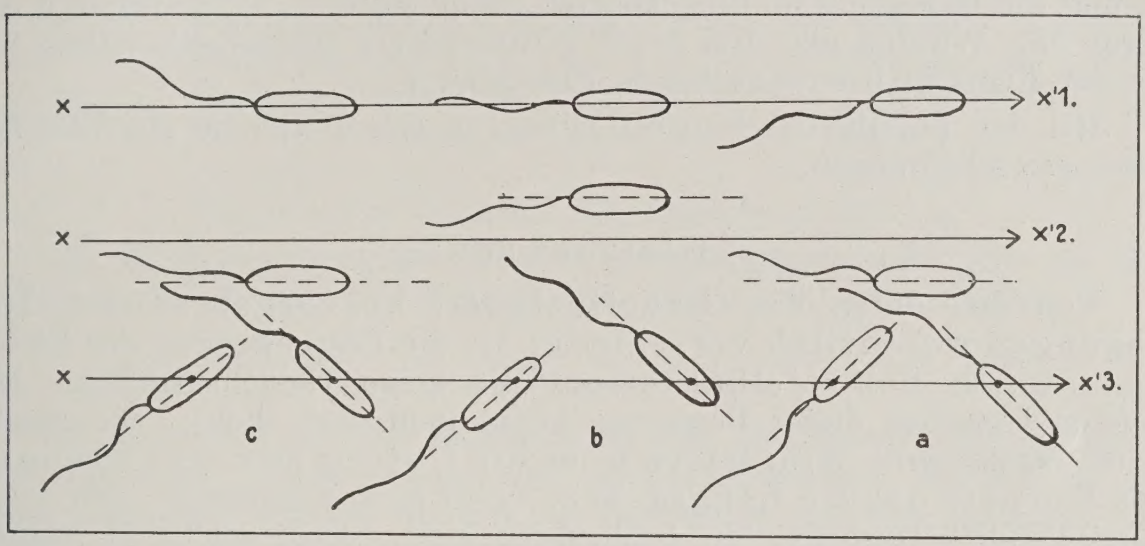


Fig. 57.

mehr oder weniger als das Hinterende des Stäbchens von der Bahn abweichen oder endlich beide gleich weit (a, b, c). Es kommt dabei zu den oben genannten Trichterbewegungen. Die Zellpole beschreiben bei der Fortbewegung in diesem Falle Schraubenlinien.

Die Beobachtung der Bewegungserscheinungen an peritrich begeißelten Bakterien hat ergeben, daß auch sie bei der Bewegung eine Rotation des Körpers links herum vollführen, der auch

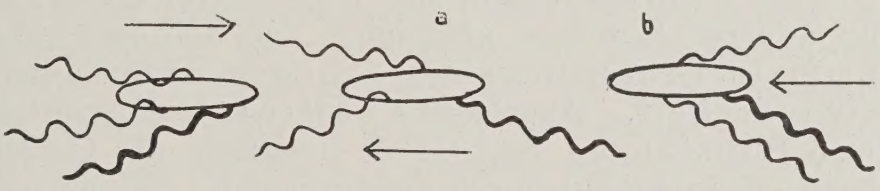


Fig. 58.

die an der Längswand entspringenden Geißeln folgen. Die in der Bewegung zu mehreren Zöpfen oder bei geringer Geißelzahl zu einem Zopf zusammengefalteten Geißeln sind in der Tätigkeit immer nach hinten gerichtet und entsprechen in ihrer Form rechtsläufigen Schrauben. Sie umfahren bei ihrem Schwingen Kegelmäntel. Ein einfaches Hin- und Herschlagen der Geißeln kommt auch hier nicht vor. Der Bazillenkörper vollführt sehr häufig mehr oder minder ausgesprochene Trichterbewegungen, die auf dieselbe Kräfteverteilung zurückzuführen sind wie bei den polarbegeißelten Formen. Die Umkehrung der Bewegung geschieht nun in der Weise, daß nach kurzem Stillstande dersel-

ben alle Geißelzöpfe gleichzeitig nach vorne gestellt werden, oder nur ein einzelner dickerer, worauf die Bewegung wieder eintritt. In Figur 58 ist dies kurz skizziert. Die von links nach rechts in Bewegung befindliche Zelle hat drei Geißelzöpfe, von denen der vorderste der stärkste ist. Bei der Umkehrung der Bewegungsrichtung legt sich nach kurzer, sozusagen momentaner Ruhepause der stärkste Geißelzopf allein nach vorne und fängt sofort zu schwingen an, so daß er allein die Rückbewegung besorgt, während die anderen Geißelzöpfe sich allmählich umstellen. Den Moment, wo nur der eine dickste Zopf nach vorne gestellt ist und die Bewegung im umgekehrten Sinne einsetzt, sehen wir in a der Figur 58. Wurden alle drei Zöpfe gleichzeitig umgestellt, haben wir die der Figur 58 b entsprechende Erscheinung.

Bei den begeißelten Kugelbakterien sehen wir die gleichen Bewegungserscheinungen.

b) Gleitbewegung.

Von den durch die Geißeltätigkeit hervorgebrachten Bewegungen wesentlich verschieden ist die Fortbewegung der Fäden von gewissen Schwefelbakterien, die keine Geißeln tragen. Die tieferen Ursachen dieser Bewegung kennt man noch nicht. Sie gleicht einem langsamen Hingleiten über die Unterlage unter Drehung des Körpers um die Längsachse, wobei noch eigenartige, sehr langsame Pendelbewegungen zu beobachten sind. Eine solche Bewegung ist nur dann möglich, wenn die Zellfäden irgendeinen Stützpunkt besitzen; sie hat aber mit Schwimmbewegungen gar nichts zu tun. Wir dürfen wohl annehmen, daß diese Oszillatorienbewegung ebenfalls durch Plasmakontraktionen ausgelöst wird, die sich auf die elastische Zellmembran dieser Bakterien übertragen.

c) Bewegungsgeschwindigkeit.

Die Bewegungsgeschwindigkeit der Bakterien ist bei den einzelnen Arten verschieden und bei ein und derselben Art von einer Reihe äußerer Einflüsse abhängig. Im allgemeinen begünstigen optimale Ernährungsbedingungen und Temperaturen die Geschwindigkeit. Angehäufte Stoffwechselprodukte, dann narkotische Substanzen und Gifte hemmen die Geißelbewegung vorübergehend oder dauernd durch Zerstörung der Geißeln oder Zellen. Das gleiche gilt für höhere oder tiefere Temperaturen. Schon Erwärmungen auf wenige Grade über das Wachstumstemperaturoptimum der betreffenden Bakterienart genügen, die Bewegung einzustellen. Die Geißeln verfallen dabei in den Zustand der „Wärmestarre", aus dem sie sich nach Wiedereinbringen in günstige Temperaturverhältnisse alsbald erholen.

Nach den Untersuchungen von Zopf am Bacillus vernicosus liegen die Maximaltemperaturen für Wachstum und Bewegung anders. Hier wird beispielsweise das Wachstum bei 45—46° C bereits eingestellt, während die Bewegungen erst bei 50° C sistiert werden. Wir sehen also, daß in dieser Hinsicht bei den Bakterien große Verschiedenheiten herrschen, weshalb sich ein allgemein gültiges Gesetz nicht herausfinden läßt.

Tiefe Temperaturen führen zur Geißelstarre, die man in diesem Falle als „Kältestarre" bezeichnet. Auch sie geht beim Wiedererwärmen zurück.

Nach den Untersuchungen von Lehmann und Fried ist die Geschwindigkeit der Bakterienbewegung sehr groß, da in der Sekunde unter günstigen Bedingungen eine Strecke von der drei- bis zehnfachen Körperlänge zurückgelegt wird. Nach den von den oben genannten Autoren vorgenommenen Messungen können für die Größe der Bakterienbewegung in der Sekunde folgende Mittelzahlen gelten:

Bacillus megatherium	7,5 μ
Bacillus subtilis	10,0 μ
Bacillus tetani	11,0 μ
Bacillus vulgaris	14,0 μ
Bacillus typhi	18,0 μ
Microspira Comma (Choleravibrio)	30,0 μ

Ein Zusammenhang zwischen Geschwindigkeitsgröße, Art der Begeißelung und Anzahl der Geißeln läßt sich kaum herausfinden.

d) Taxien.

Im Anschluß an die Besprechung der Bakterienbewegung sollen hier diejenigen chemischen und physikalischen Einflüsse genauer behandelt werden, die auf die Bewegung richtunggebend einwirken. Es kann sich hier natürlich nur um einseitige Reizwirkungen handeln, auf die Bakterien durch Ausführung bestimmt gerichteter Bewegungen antworten. Man bezeichnet solche Ortsveränderungen der Bakterien ganz allgemein als „Taxis" und näher durch Hinzusetzen der Bezeichnung des Reizes. Findet eine Bewegung zur Reizstelle statt, dann spricht man von positiver Taxis, im umgekehrten Falle von negativer Taxis. Ganz allgemein nennt man die auf chemische einseitige Reize hin ausgelösten und gerichteten Bakterienbewegungen Chemotaxis.

Es wirken nun verschiedene gelöste Stoffe chemotaktisch. Nach den grundlegenden Untersuchungen Pfeffers verhalten sich die einzelnen Bakterienarten diesen Lösungen gegenüber sehr verschieden. Reine chemotaktische Wirkungen erhalten wir durch Salzlösungen, die an und für sich keine Nahrung für die Bakterien darstellen. In ihnen wirkt vornehmlich der elektropositive Bestandteil, während die Säure eine mehr nebensächliche Rolle spielt. Besonders anziehend auf Bakterien wirken unter den Alkalien das Kalium, weniger das Natrium. Auch zahlreiche Nährstoffe wirken chemotaktisch auf die Bakterien ein, wie vorzugsweise Lösungen von Pepton und Fleischextrakt. Es ist hier aber keine reine Chemotaxis mehr, sondern vielmehr ein Trophotropismus, ausgelöst durch den Ernährungsreiz. Sehr schön gelingen die chemotaktischen Versuche nach Pfeffer mit feinen, an einem Ende verschmolzenen kurzen Kapillaren ($^1/_2$—1 cm), die man etwa zur Hälfte mit der auf chemotaktische Eigenschaften zu prüfenden Lösung füllt und mit dem offenen Ende dann in ein Tröpfchen mit gut beweglichen Bakterien einschiebt. Der Tropfen soll so viel Bakterienmaterial aufweisen, daß er eben leicht getrübt erscheint. In Figur 59 ist die Versuchsanordnung wiedergegeben.

Hier ist in das Röhrchen eine 3proz. Peptonlösung eingefüllt. Als Bakterienmaterial dienten gut bewegliche Wasserbakterien. Schon nach wenigen Sekunden sammeln sich dieselben an der Öffnung der Kapillare und stürzen mit großer Geschwindigkeit in dieselbe hinein. Soweit der Diffusionsstrom der Kapillare in den Tropfen reicht, schwimmen die Bakterien von allen Seiten herzu. Ähnliches erhält man mit 5proz. Fleischextraktlösungen, Lösungen von Asparagin, schwachen Chlorkaliumlösungen usw. Die einzelnen Bakterienarten verhalten sich diesen Stoffen gegenüber aber sehr verschieden. Sehr wenig empfindlich sind im allgemeinen die Bakterien gegenüber Kohlehydratlösungen. Bacterium termo wird nach Pfeffer von Dextrinlösungen angezogen, nicht aber das Spirillum undula. Glyzerin wirkt chemotaktisch gar nicht. Wir haben bisher nur von Anziehung, also positiver Chemotaxis der Bakterien, durch eine Reihe von Stoffen gehört. Viele Lösungen wirken aber abstoßend auf die Bakterien, lösen also eine negative Chemotaxis aus. Freie Säuren, Alkalien und Alkohol werden von allen Bakterien geflohen. In einer Verbindung kann nun das Metall positive Chemotaxis, die Säure dagegen negative Chemotaxis auslösen. In diesem Falle nehmen die Bakterien eine Mittelstellung ein, werden also in einer bestimmten Zone festgehalten. Die Reizwirkungen haben bei der reinen Chemotaxis mit dem Nährwert der betreffenden Verbindung nichts zu tun, da auch nicht nur ernährende, sondern sogar giftige Stoffe positive Chemotaxis auszulösen imstande sind, wie beispielsweise Äther. Wir dürfen also in dieser Reaktion der Organismen auf chemische Reize durchaus nicht zweckmäßige Einrichtungen erblicken, die für das Gedeihen der Zelle einen besonderen Wert haben müssen.

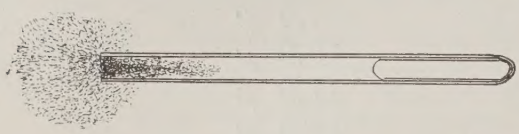


Fig. 59.

Bei der Chemotaxis dürfen wir auch auf die osmotische Wirksamkeit der gelösten Verbindungen nicht vergessen. Dies gilt natürlich nur für die beweglichen und plasmolysierbaren Bakterienarten. Hier kann durch die Änderung der äußeren osmotischen Druckverhältnisse ebenfalls eine besondere Einstellung und Richtung der Bakterienbewegung ausgelöst werden. Wir sprechen dann von Osmotaxis. In vielen Fällen wird Chemotaxis und Osmotaxis zusammenwirken.

Nach einiger Zeit, sobald die chemotaktisch wirksame Flüssigkeit durch die Diffusion sich im Bakterientropfen gleichmäßig verteilt hat, hören die Ansammlungen wieder auf. Wollen wir im selben Tropfen mit den gleichen Bakterien neuerdings einen positiven chemotaktischen Versuch anstellen, müssen wir bedeutend konzentriertere Lösungen in die Kapillare einfüllen. Die Steigerung der Konzentration zur Auslösung einer starken Wirkung muß 10—20mal sein. Wenn also die Bakterien in einer 0,5proz. Peptonlösung liegen, müssen wir sie zur Auslösung einer starken Chemotaxis mit einer mindestens 5proz. Peptonlösung reizen.

Freier Sauerstoff wirkt auch chemotaktisch auf Bakterien ein. Man hat die durch den Sauerstoff bewirkte Bewegungsrichtung der Bakterien auch „Aërotaxis" genannt. Die verschiedenen Bakterienarten verhalten sich gegen den Luftsauerstoff außerordentlich verschieden.

Einige können ohne ihn nicht leben, andere bedürfen seiner nur in mehr oder minder kleinen Mengen, und wieder andere können nur ohne ihn vegetieren. Wenn wir nun ein Tröpfchen mit sauerstoffliebenden, gut beweglichen Bakterien in eine Kapillare so füllen, daß noch eine Luftblase in derselben zurückbleibt und schließlich beide Enden abschmelzen, so wandern nach kurzer Zeit alle beweglichen Bakterien zur Luftblase hin und drängen sich dort zu einem dichten Pfropf zusammen. In Figur 60 ist die Versuchsanordnung wiedergegeben. In a sehen wir das eben gefüllte und abgeschmolzene Kapillarrohr. Die Bakterien sind in der Flüssigkeit noch gleichmäßig verteilt. Nach etwa einer halben Stunde ist die Mehrzahl derselben bereits zur Luftblase gewandert, wie es *b* dieser Figur zeigt.

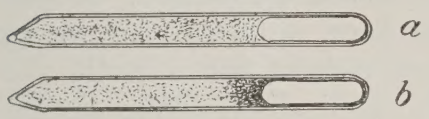


Fig. 60.

Die beweglichen Bakterien suchen nun auch denjenigen Ort in der Flüssigkeit auf, der ihnen die zusagendste Sauerstoffspannung bietet. Beijerinck hat diese Erscheinungen eingehend studiert und ist dabei zu seinen Atmungsfiguren gekommen. Er brachte auf große Objektträger Tropfen gut beweglicher, verschieden sauerstoffbedürftiger Bakterien. Diese Tropfen wurden mit einem großen, runden Deckglase bedeckt, das an einer Stelle, nahe dem Rande von einem Stückchen Platindraht unterstützt war. In Figur 61 ist die Versuchsanordnung im Schnitt wiedergegeben. *O* bedeutet den Objektträger, *P* den Platindraht, *D* das Deckgläschen und *F* den in Keilform ausgebreiteten bakterienhaltigen Tropfen. Bei dieser Zusammenstellung haben die einzelnen Zonen des unter dem Deckglase befindlichen Flüssigkeitsteiles sehr verschiedenen Sauerstoffgehalt. Die Bakterien wandern in diesem

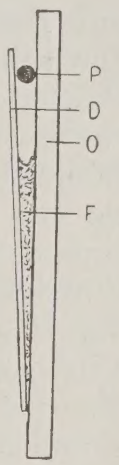


Fig. 61.

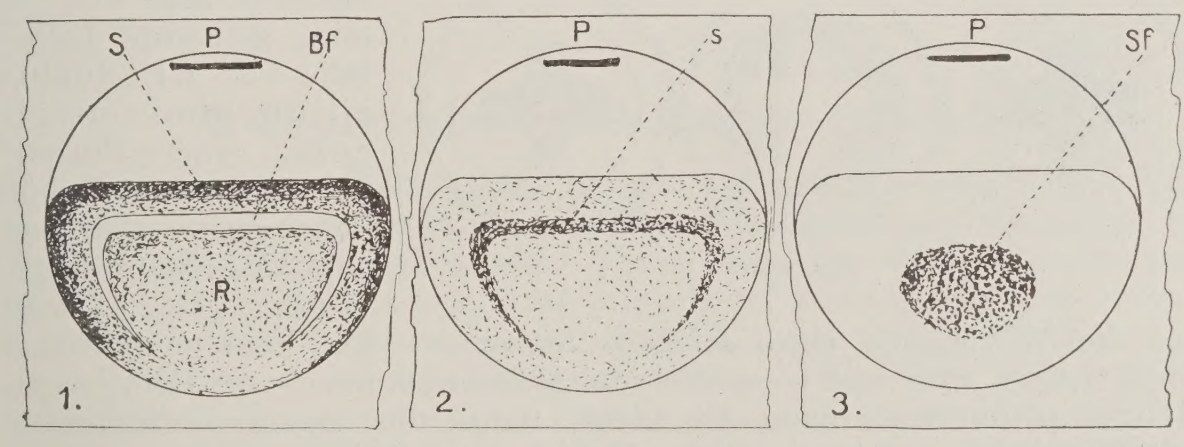


Fig. 62.

Falle in jene Teile dieses Keiles, die die optimale Sauerstoffspannung aufweisen. Es zeigten sich im allgemeinen drei verschiedene Ansammlungsformen der Bakterien, die Beijerinck eben Atmungsfiguren nennt. In Figur 62 sind dieselben in annähernd natürlicher Größe nach dem genannten Untersucher abgebildet. In 1 dieser Abbildung sehen wir die Ansammlung von sehr sauerstoffliebenden beweglichen Bakterien. Dieselben streben dem äußersten Rande des Flüssigkeitskeiles zu, der unmittelbar an die Luft grenzt. Die beste Durchlüftung bietet die Basis

des Flüssigkeitskeiles, wo sich auch die stärkste Ansammlung zeigt (*S*). Dann folgt eine bakterienfreie Zone (*Bf*), während das Innere des Keiles nur die schlecht und gar nicht beweglichen Bakterien beherbergt. Anders ist das Bild der Ansammlung von beweglichen Bakterien, die eine geringe Sauerstoffspannung bevorzugen. Sie ziehen sich in einer Zone zusammen, die etwas vom Rande entfernt liegt, wie es 2 in *s* zeigt. Der übrige Teil der Flüssigkeit enthält nur die unbeweglichen Bakterien. Die den Sauerstoff fliehenden Bakterien sammeln sich im Bezirk mit dem geringsten Sauerstoffgehalt an, wie es 3 bei *SF* aufweist.

Auch eine Reihe physikalischer Reize wirkt richtunggebend auf Bakterien ein, so daß dadurch gewisse Taxien ausgelöst werden. Die schon von Engelmann beobachteten Schreckbewegungen der Bakterien beim Wechsel der Lichtintensität sind auf einen Lichtreiz zurückzuführen. Dabei werden die Bakterien durch die beleuchtete Stelle, besser gesagt durch den Lichtreiz, nicht etwa angezogen, so daß sie alle dem stärker beleuchteten Bezirk zustreben, sondern, wenn sie einmal bei ihrer freien Bewegung in die besser beleuchteten Teile der Flüssigkeit gelangt sind, an dem Wiederaustritt gehindert. Wie sie bei der Bewegung in der hellen Zone zufällig an die dunkle kommen, so schrecken sie zurück und verbleiben in dem stärker beleuchteten Teil. Sie sind wie in einer Falle, in die sie leicht hineingehen, aber nicht mehr herauskommen (Lichtfalle). Es ist dies eine Art Phototaxis. Nach Pfeffer handelt es sich dabei eigentlich um eine Phototaxis, bei der die Ansammlung der Bakterien in einem bestimmten Bezirk dadurch erreicht wird, daß die Bakterien ungehindert in das Gebiet des Reizes gelangen, aber daraus nicht wegschwimmen können.

Im tieferen Grunde scheinen nach den Untersuchungen Rotharts die meisten taktischen Bakterienansammlungen phototaktischer Natur zu sein. Unter anderem läßt sich die oben genannte Lichtfalle mit Rhodospirillum photometricum, einer Purpurbakterie, sehr schön demonstrieren, wie es auch Molisch dargetan hat. Fig. 63 zeigt uns die Wiedergabe eines solchen Versuches. Ein hohl geschliffener Objektträger wird mit einer dichten Aufschwemmung von Rhodospirillum photometricum beschickt, dann mit einem Deckgläschen luftblasenfrei bedeckt, so daß die Höhlung des Objektivträgers vollkommen mit der Bakterienaufschwemmung ausgefüllt ist. Der Rand des Deckgläschens wird mit Terpentinharz luftdicht am Objektivträger festgeklebt. Auf das Deckgläschen kommt nun eine schwarze Maske, z. B. ein schwarzes, undurchsichtiges Papierkreuz, wie es *a* der Figur 63 zeigt. Nun wird die Versuchsanordnung dem diffusen Tageslichte oder dem Lichte eines Auerbrenners ausgesetzt. Entfernt man nun nach ca. einhalbstündiger Belichtung das schwarze Kreuz, so bemerkt man eine vollständige Wiedergabe desselben als glasklare Stelle, wie es *b* der Fig. 63 zeigt. Alle Bakterien sind in den belichteten Teil der Flüssigkeit ge-

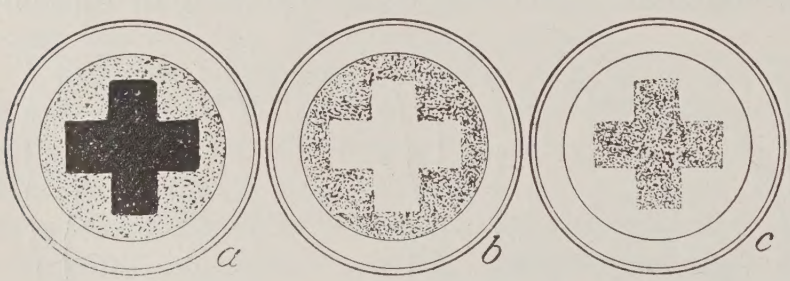


Fig. 63.

gangen und wurden dort festgehalten. Deshalb erscheint der belichtete Teil der Flüssigkeit sehr dicht getrübt. Die Erscheinung dauert aber nur wenige Minuten. Dann stürzen alle Bakterien in das Kreuz hinein und sammeln sich dort an, so daß eine Umkehrung des Phänomens eintritt, wie es aus *c* der Figur 63 ersichtlich ist. Diese Erscheinung dürfte in einer Chemotaxis ihre Ursache haben, wie Molisch richtig schließt. Außen ist durch Bakterien der Nährboden stark verbraucht worden, während er im bakterienfreien Teil erhalten blieb. Sobald dieser Teil wieder belichtet ist, gehen die Bakterien alsbald hinein.

Auch Wärme scheint eine positive Thermotaxis in dem Sinne auszulösen, daß gewisse Bakterien, wie z. B. der Bacillus prodigiosus, dem stark erwärmten Teil des hängenden Tropfens zustreben, wie Schenk mitteilt.

Auch die Schwerkraft soll teils positive, teils negative Geotaxis veranlassen, was Massart für einige marine Spirillenarten dargetan hat.

Über die durch elektrische Ströme verursachte Galvanotaxis der Bakterien liegen mehrere Beobachtungen vor. Danach sollen sich gut bewegliche jugendliche Bakterien parallel zur Richtung von Induktionsströmen einstellen, die das flüssige Nährsubstrat durchfließen. Über die feineren Vorgänge bei der Auslösung dieser Reize und über die Lokalisation der Reizwirkungen ist uns zurzeit nichts bekannt. Vielleicht wirken die genannten Reize überhaupt nur auf die Geißeln allein, ohne in das Zellinnere zu gelangen, und beeinflussen so die Stellung und Tätigkeit derselben. Übrigens scheinen für die verschiedenen Reize auch sehr verschiedene Reizschwellen vorhanden zu sein. Außerdem bleibt die Reizmöglichkeit für einzelne Reize erhalten, während sie für andere unterdrückt ist.

---

5. Physiologie der Bakterienernährung.

Das Leben und Wachstum besteht auch in der einfachsten Form in einem ständigen Zerfall und Aufbau der lebendigen Substanz, des eigentlichen Trägers des Lebens. Dieser ständige Stoffaustausch kann aber nur dann stattfinden, wenn diejenigen Verbindungen, aus denen sich das Zytoplasma, bzw. die ganze Zelle aufbaut, in genügender und auch passender Form zur Verfügung stehen. Die in der Nahrung dargereichten Nahrungsstoffe allein können wohl den Verbrauch an lebender Substanz in chemischem Sinne decken; sie könnten aber gleichzeitig auch die zum Leben notwendige Energie kaum in genügender Menge der Zelle zuführen. Deshalb ist man gewohnt, den gesamten Stoffwechsel des Organismus in einen Baustoffwechsel und Betriebsstoffwechsel zu scheiden.

Alle Stoffwechselvorgänge sind auf das innigste mit der Bildung und der Tätigkeit der Enzyme in und außerhalb der Zelle verknüpft.

Wie schon mitgeteilt, sind alle Enzyme als Zellprodukte aufzufassen. Sie werden vom lebenden Protoplasma zwar gebildet, äußern ihre Wirkung aber unabhängig von den lebenden Zellen. Sowohl die Menge

eines Enzymes als auch die Bildung desselben überhaupt ist aber von einer Reihe äußerer Bedingungen abhängig. So werden die eiweißspaltenden, proteolytischen Enzyme dann am besten ausgebildet, wenn den Bakterien im allgemeinen komplizierte eiweißartige Körper im Kultursubstrat in genügender Menge zur Verfügung stehen. Es findet dabei eine gewisse Anpassung statt. Die Bildung von Proteasen erfährt aber eine starke Einschränkung oder kann gänzlich unterdrückt werden, wenn gleichzeitig eine große Menge vergärbarer Kohlehydrate der Bakterienart zur Verfügung steht. Viele Substanzen haben die Eigenschaft, nur die Bildung eines oder mehrerer Enzyme zu hemmen, ohne das Wachstum und die Vermehrung der Bakterien zu beeinträchtigen. Folgendes Beispiel soll dies näher beleuchten:

Es entwickelt sich Bacillus prodigiosus in Nährbouillon mit einem Zusatz von 0,5% Morphium, Strychnin oder Antipyrin noch gut. Proteasen konnten aber nur in den Kulturen mit Morphium nachgewiesen werden. Bacillus pyocyaneus wächst mit den genannten Zusätzen oder mit beigegebenem Chinin gut, vermag aber sein proteolytisches Enzym sowohl bei Morphium- als auch Strychnin- und Antipyrinzusatz zu produzieren und wird darin nur vom Chinin gehindert. Der Vibrio der asiatischen Cholera gedeiht in Bouillon mit einem Zusatz von 0,5% Morphium oder Antipyrin, erzeugt seine Protease aber nur in dem morphinhaltigen Nährsubstrat.

Durch länger dauernde Zucht einer Bakterienart unter ungünstigen äußeren Bedingungen wird ebenfalls eine Verminderung der Proteasenbildung herbeigeführt. So beobachtete man ein Zurückgehen der Fähigkeit zur Gelatineverflüssigung beim Vibrio cholerae und anderen sonst stark leimpeptonisierenden Mikroben. Diese Erscheinung hat ihren Grund in einer mangelhaften Proteasebildung.

Für die Bildung der kohlehydratspaltenden und auch gärenden Enzyme kann ganz allgemein die Regel gelten, daß dieselbe durch die Anwesenheit spaltbarer und vergärbarer Verbindungen gefördert wird. In dieser Hinsicht herrscht eine gewisse Anpassungsfähigkeit, so daß mit Zunahme der vergärbaren Kohlehydrate auch eine Zunahme der Menge des entsprechenden Enzymes einhergeht.

Ganz allgemein werden alle äußeren Faktoren, die das Wachstum ungünstig beeinflussen, auch die Enzymbildung herabsetzen, da ja dieselbe einzig und allein an das Leben der Zelle gebunden ist.

1. Nahrungsstoffe der Bakterien.

Das lebende Plasma ist seiner Hauptmenge nach aus Eiweiß aufgebaut. Zur Deckung des durch die Lebensfunktionen eintretenden Verbrauches an lebendiger Substanz müssen der Zelle alle Elementarstoffe aus der Umgebung zur Verfügung stehen, die das lebende Eiweißmolekül aufbauen. Wie die Bakterienanalysen gezeigt haben, können wir die Elemente Stickstoff, Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Phosphor und Schwefel, als in bestimmten Verbindungen dargereicht, als Grundnahrungsstoffe annehmen. Dazu kommen noch Kalium und Magnesium und allenfalls Eisen bzw. Mangan. Hinsichtlich der

letztgenannten Elemente scheint übrigens eine gewisse gegenseitige Vertretbarkeit bei der Bakteriennahrung tatsächlich zu bestehen. Kalium, Magnesium usw. müssen der Zelle meist in Form von Neutralsalzen (schwefelsauren, salzsauren usw.) zur Verfügung stehen, wahrscheinlich weniger aus direkten Ernährungsgründen als vielmehr aus physikalischen Gründen, um als besonders leicht dissoziierbare Verbindungen die entsprechenden osmotischen Drucke hervorzurufen. Wenn auch die Bakterien ein sehr großes Anpassungsvermögen im allgemeinen besitzen, sind sie hinsichtlich ihrer Ansprüche an bestimmte Verbindungen in der Nahrung doch ziemlich wählerisch.

Es soll nun kurz auf jene Verbindungen allgemein eingegangen werden, aus denen die Bakterien ihren Bedarf an den obengenannten Elementarbestandteilen zu decken vermögen.

a) Stickstoffquellen.

Wenn wir die Stickstoffquellen, die von den Bakterien ausgenutzt werden, näher betrachten, so finden wir, daß dieselben sich vom nativen Eiweiß herunter bis zu einfachsten anorganischen Verbindungen und sogar elementaren Stickstoff zusammenfinden. So können die anspruchsvollsten Bakterien nur aus Eiweißkörpern ihren Stickstoffbedarf decken. Unter ihnen finden wir die im Tierkörper parasitär lebenden Bakterien, mit denen sich in erster Linie die medizinische Bakteriologie zu befassen hat. Mit A. Fischer kann man diese Mikroorganismen als paratrophe Bakterien zusammenfassen.

Wieder andere Bakterien können als Stickstoffquelle außer den Eiweißkörpern noch Abbauprodukte derselben und einfachere Amidverbindungen gebrauchen. Sie decken ihren Bedarf also vorwiegend aus organischer Nahrung, vermögen aber auch gelegentlich als Parasiten aufzutreten. Wir fassen sie mit Fischer in der biologischen Gruppe der metatrophen Bakterien zusammen. Die sogen. Fäulnisbakterien oder Saprophyten und De Barys Hemiparasiten gehören auch hierher. Eine dritte Gruppe von Bakterien deckt ihren Gesamtnahrungsbedarf, also auch den Stickstoffbedarf, aus unorganisierten Stoffen oder wenigstens letzteren bei Darreichung einer organischen Kohlenstoffquelle in geringster Menge. Sie umfaßt die prototrophen Bakterien im Sinne A. Fischers.

In bezug auf die den Bakterien eben noch zugänglichen Stickstoffquellen können wir erstere in sieben große Gruppen einteilen, die Alfred Fischer auf Grund eigener Untersuchungen und nach Befunden anderer Autoren zusammengestellt hat.

1. Gruppe: **Paratrophe Bakterien.**

Sie umfaßt, wie schon oben angedeutet, jene Mikroben, die ihren Stickstoffbedarf nur aus Eiweißverbindungen zu decken vermögen, wenn ihnen dieselben mit allen anderen Stoffen in demselben Mischungsverhältnis zur Verfügung stehen, wie sie der Wirtskörper enthält. Die hier untergebrachten krankheitserregenden Bakterien sind daher außerhalb des Tierkörpers nur züchtbar auf Blutserum und anderen Körpersubstanzen in natürlicher Zusammensetzung.

2. Gruppe: **Peptonbakterien.**

Ihnen muß der Stickstoff in organischer Bindung dargereicht werden, wie er sich in Peptonen und Albumosen als den ersten Bruchstücken der Eiweißkörper befindet.

3. Gruppe: **Amidbakterien.**

Sie vermögen den Stickstoffbedarf bei optimalem Wachstum aus Monoaminosäuren (Leuzin usw.), Monoaminokarbonsäuren (Asparaginsäure usw.), Diaminosäuren zu decken, nicht aber aus Ammoniak.

4. Gruppe: **Ammonbakterien.**

Ihnen ist der Ammoniakstickstoff noch zur Deckung des Stickstoffbedarfes ausreichend. Sie vermögen aber auch als Stickstoffnahrung die in der Gruppe 3 genannten Verbindungen zu gebrauchen.

5. Gruppe: **Nitrobakterien.**

Sie können den zur Nahrung notwendigen Stickstoff auch salpetersauren Salzen entnehmen, wobei eine Reduktion der Salpetersäure eintritt, die bis zur Abspaltung von freiem Stickstoff führen kann. Für die Zugänglichkeit dieser Stickstoffquelle ist aber die gleichzeitige Anwesenheit einer besonderen organischen Kohlenstoffquelle unerläßlich.

6. Gruppe: **Nitrit- und Nitratbakterien.**

Für sie kommt ausschließlich Ammoniak, bzw. oxydierter Stickstoff (salpetrige Säure) als Stickstoffquelle in Frage. Dabei dient als ausschließliche Kohlenstoffquelle die Kohlensäure der Luft.

7. Gruppe: **Nitrogenbakterien.**

Ihnen kann als Stickstoffquelle der elementare Stickstoff der Luft dienen, wenn zugleich eine organische Kohlenstoffverbindung zur Verfügung steht.

Aus dieser Einteilung ist die Vielseitigkeit der Ansprüche der Mikroorganismen in bezug auf die Stickstoffnahrung klar ersichtlich.

b) Kohlenstoffquellen.

Die den Bakterien zur Verfügung stehenden Kohlenstoffquellen sind sehr zahlreich. Doch verhalten sich die Bakterien gegen dieselben sehr verschieden. Alle eben genannten organischen Stickstoffquellen enthalten auch Kohlenstoff. In sehr vielen Fällen reicht dieser aus, den Kohlenstoffbedarf zu decken. Für die Mehrzahl der Bakterien ist aber zur Ernährung bei optimaler Vermehrung eine besondere Kohlenstoffquelle notwendig. Dieselbe kann entweder anorganischer oder organischer Natur sein.

Als anorganische Kohlenstoffquellen sind die wasserlöslichen Karbonate des Na, K, Mg, Ca und Fe von Bedeutung und Kohlendioxyd, Kohlenoxyd und Methan. Können nun Bakterien ihren Kohlenstoffbedarf nur ausschließlich mit anorganischen Kohlenstoffquellen decken, so bezeichnet man sie als „autotrophe" Mikroorganismen, denen man die „heterotrophen" Bakterien gegenüberstellt, welche organische

Kohlenstoffquellen verlangen. Ist die Ernährung teils autotroph, teils heterotroph, so spricht man von „mixotrophen" Organismen.

Die überwiegende Mehrheit der Bakterien verlangt organische C-Quellen. Welche organischen Kohlenstoffverbindungen nun die beste Kohlenstoffquelle abgeben, kann allgemein nicht bestimmt werden. Man hat versucht, eine Nährwertskala für diese Stoffe aufzustellen, die aber selbstverständlich nur für eine sehr beschränkte Anzahl von Bakterien gelten kann, da in dieser Hinsicht die einzelnen Bakterienarten große Unterschiede aufweisen. Omeliansky und Winogradsky geben eine solche Nährwertskala, in der entsprechend der Größe des Nährwertes die Verbindungen aufgezählt sind.

An erster Stelle steht Pepton, dann folgen Glukose, Asparagin, Glyzerin, Harnstoff, Essigsäure und endlich Buttersäure. Auch eine Reihe organischer Säuren ist nach Maaßen für Bakterien eine gute Kohlenstoffquelle. Solche Verbindungen sind Apfelsäure, Zitronensäure, Fumarsäure, Glyzerinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure und Weinsäure. Daneben finden wir noch eine Anzahl organischer Säuren, die ebenfalls in einzelnen Fällen gute Kohlenstoffquellen für bestimmte Bakterienarten abgaben, in der Regel aber unbrauchbar sind, wie beispielsweise Oxalsäure.

Die mehrwertigen Alkohole ergeben meistens bei ihrer enzymatischen Spaltung Produkte, die leicht zugängliche Kohlenstoffquellen für die Mikroben sind.

Im übrigen verhalten sich die Bakterien den Kohlenstoffquellen gegenüber sehr wählerisch, sofern mehrere zugängliche gleichzeitig vorliegen. Die Aufschließung derselben geschieht meist durch besondere Enzyme, wie schon früher dargetan wurde. Es herrscht gewiß eine Gesetzmäßigkeit in bezug auf die Brauchbarkeit als Kohlenstoffquelle und der sterischen Konfiguration der Verbindung. Wir sind aber noch weit entfernt, in dieser Hinsicht klar zu sehen, da alle Regelmäßigkeit durch fast ebenso zahlreiche Ausnahmen durchbrochen wird. Für viele Bakterien hat es wenigstens den Anschein, als wären alle jene Kohlenstoffverbindungen für sie unbrauchbar, in denen eine unmittelbare Bindung des Sauerstoffes oder Stickstoffes mit dem Kohlenstoffatom vorliegt, wie beispielsweise in der Oxalsäure, im Cyan oder im Harnstoff. Wir haben aber schon früher Ausnahmen in bezug auf die Oxalsäure und den Harnstoff kurz kennen gelernt. Im allgemeinen kann für die meisten Fälle diese Annahme allerdings gelten. Dieselbe Berechtigung hat auch die Anschauung, daß gerade diejenigen Kohlenstoffverbindungen die geeignetsten sind, deren Kohlenstoffatom unmittelbar mit Wasserstoff gebunden ist.

Stehen einer Bakterienart razemische Verbindungen als besondere Kohlenstoffquelle zur Verfügung, so wird in vielen Fällen nur der eine aktive Paarling aufgezehrt.

c) Sauerstoff- und Wasserstoffquellen.

Sauerstoff steht den Mikroorganismen als freier Luftsauerstoff oder in den zahlreichen sauerstoffhaltigen Verbindungen reichlich zur Verfügung. Im allgemeinen spielen für die Ernährung wohl die wichtigste Rolle der Sauerstoff der Luft und der organisch gebundene Sauerstoff.

Dem Luftsauerstoff gegenüber verhalten sich die einzelnen Bakterienarten sehr verschieden. Schon bei der Besprechung der Aerotaxis wurde darauf kurz hingewiesen. Die verschiedenen Untersuchungen haben nun ergeben, daß ganz allgemein für den Sauerstoffbedarf drei Kardinalpunkte aufgefunden werden können; das sind jene Sauerstoffspannungen, bei denen sich der betreffende Organismus am besten vermehrt und seinen ganzen Entwicklungskreis durchmacht, das Sauerstoffoptimum, jene niederen Konzentrationen, bei denen eine Vermehrung überhaupt noch möglich ist, die Sauerstoffminima, und endlich jene größten Sauerstoffmengen, die noch eine Entwicklung zulassen oder bei denen dieselbe eben gehindert wird, die Sauerstoffmaxima.

Da herrschen aber insofern noch Besonderheiten, als bei den sporenbildenden Bakterien diese Kardinalpunkte für die Sporenbildung andere sind als für die Sporenkeimung und die Zellvermehrung. Ja, selbst die beiden letztgenannten Vorgänge weisen insofern kleinere Unterschiede in diesen Kardinalpunkten auf, welche im allgemeinen darin bestehen, daß der Keimungsprozeß der am wenigsten vom Sauerstoffdruck beeinflußte Vorgang ist, wie aus den Untersuchungen A. Meyers und seiner Schüler unter anderem hervorgeht. Der genannte Forscher bezeichnet nun diejenigen Sauerstoffspannungen, die zwischen den beiden Kardinalpunkten „Maximum" und „Minimum" einer Bakterienart liegen, als „Latitude" in bezug auf die Sauerstofftoleranz, die dann noch näher zu bezeichnen ist, wie beispielsweise für die Sporenbildung oder Sporenkeimung usw.

Wir kennen nach den Untersuchungen Arthur Meyers u. a. die Sauerstoffdrucke, gegeben in Liter-Milligrammen, für die Sporenbildung einer Anzahl von Bakterienarten, die in der folgenden kleinen Tabelle nach Untersuchungen A. Meyers und Bredemanns zusammengestellt sind.

Kardinalpunkte für die Sporenbildung:

	in mg Sauerstoff in Liter		
	Minimum	Optimum	Maximum
I. Bacillus amylobacter	fehlt	(25 mg?)	25 mg
II. Bacillus asterosporus	fehlt	276 mg	276 mg
III. Bacillus mycoides	6,8 mg	276 mg	1336 mg
IV. Bacillus parvus	11,3 mg	276 mg	1336 mg
V. Bacillus pumilus	130 mg	276 mg	801 mg

Versuchen wir, diese Verhältnisse graphisch darzustellen, so kommen wir zu Bildern, wie sie uns folgende Figur 64 zeigt. Dazu ist nur zu bemerken, daß die für die oben aufgeführten Bakterien gezeichneten Breiten für die Sporulation mit denselben römischen Ziffern rechts bezeichnet sind. Die Höhe für das Optimum ist in allen Fällen annähernd gleich und willkürlich gewählt. Wir wissen auch nicht, ob die Verlangsamung der Sporenbildung bis zur vollständigen Unterdrückung nach beiden Seiten in geraden Linien vom Optimum bis 0 verläuft. Außerdem ist dies Optimum nicht durch einen höchsten Punkt in Wirklichkeit gegeben, sondern durch eine horizontale Strecke von verschiedener Länge; mit anderen Worten, das Optimum wird durch eine Reihe fallender, bzw. steigender Sauerstoffkonzentrationen gegeben, die aber in sehr engen

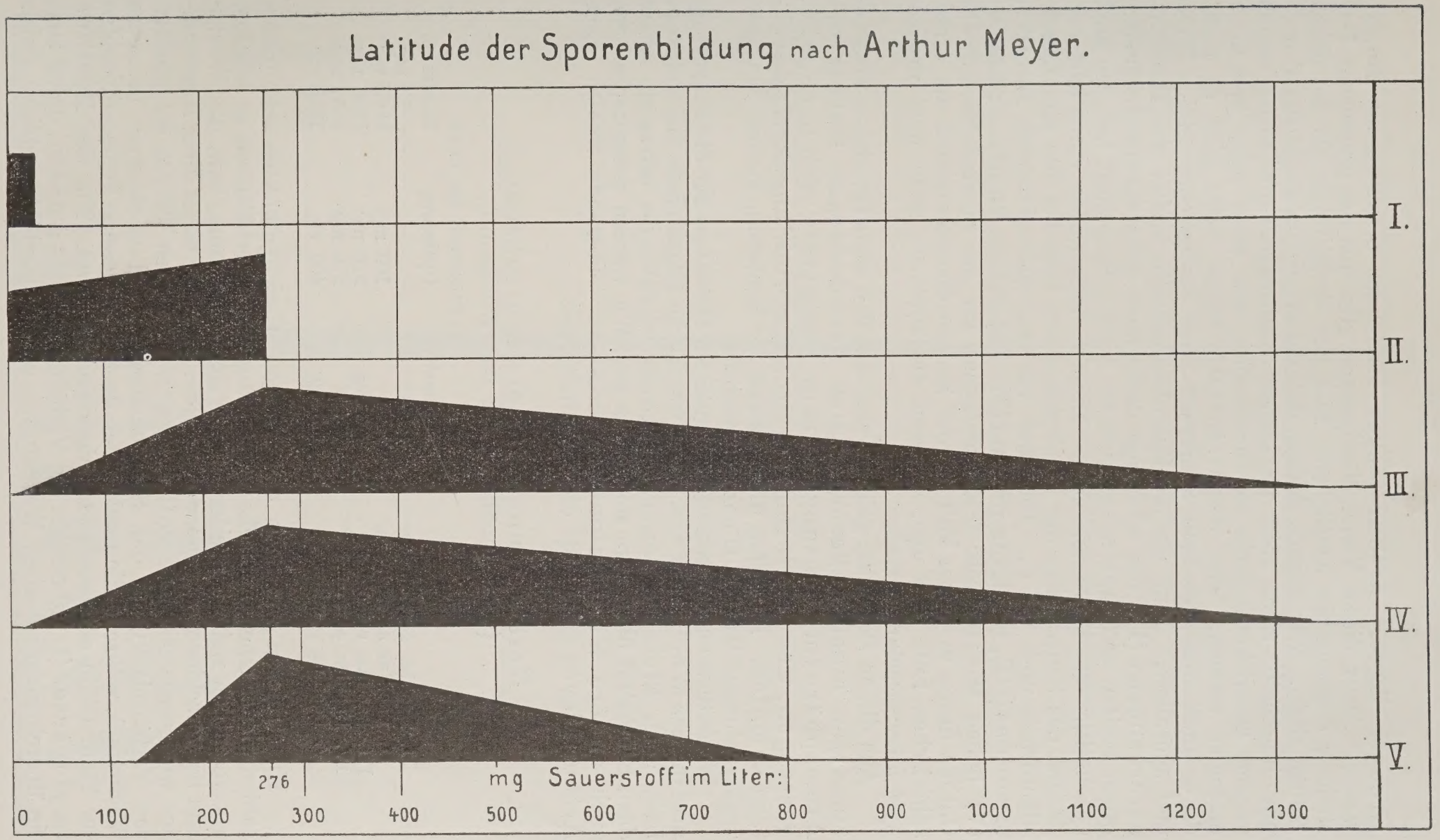

Latitude der Sporenbildung nach Arthur Meyer.
I.
II.
III.
IV.
V.
276
mg Sauerstoff im Liter:
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
1000
1100
1200
1300

Fig. 64.

Grenzen liegen. Arthur Meyer bezeichnet dieselben als Bonalweite. Trotz dieser Vernachlässigungen gibt uns die graphische Darstellung dennoch ein deutlicheres Bild der Verhältnisse als die obigen Zahlen allein. Wir ersehen daraus, daß der Bacillus amylobacter (I) nur innerhalb einer sehr geringen Sauerstoffspannung seinen ganzen Entwicklungskreis zu durchlaufen, also auch seine Sporen zu erzeugen vermag. Ein Sauerstoffminimum dafür gibt es nicht, da er auch ohne **jede Spur Sauerstoff** seine beweglichen Oidien bildet und sporuliert. Eine weitere Sporulationsbreite besitzt der Bacillus asterosporus (II), der allerdings dafür auch kein Sauerstoffminimum besitzt, sein Optimum aber bei 276 mg Sauerstoff hat, wo auch gleichzeitig das Maximum liegt. Diese Konzentration entspricht derjenigen des Sauerstoffes der atmosphärischen Luft bei 760 mm Quecksilberdruck und 18° C. Die drei übrigen Bakterienarten Bacillus mycoides (III), Bacillus parvus (IV) und endlich Bacillus pumilus (V) haben Minima der 0-Konzentration für die Sporenbildung. Die Optima liegen in jedem Fall bei der Sauerstoffkonzentration der atmosphärischen Luft (276 mg), während die Maxima mehr oder weniger weit hinausgeschoben sind.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß die untersuchten Bakterienarten einen außerordentlich verschiedenen Gehalt der Atmosphäre im Züchtungsraum an Sauerstoff verlangen, bzw. vertragen, wenn sie ihren gesamten Entwicklungskreis durchlaufen sollen. Es gelten diese Zahlen für Kulturen, die auf Traubenzuckernähragar bei 20° C gezogen wurden.

Wesentlich anders sehen die Sauerstoffweiten für die Keimung und für das Wachstum aus. Hier werden im allgemeinen viel größere bzw. auch kleinere Sauerstoffkonzentrationen ertragen, sofern dazu Sauerstoff überhaupt notwendig ist. Wir werden dementsprechend auch andere Kardinalpunkte erhalten. Folgende Zahlen nach Arthur Meyer gelten für diese Verhältnisse:

Kardinalpunkte für die Sporenkeimung
(auch annähernd für das Wachstum).

	Sauerstoff im Liter		
	Minimum	Optimum	Maximum
I. Bacillus amylobacter	fehlt		ca. 25 mg
II. Bacillus asterosporus	fehlt	100 mg	5600 mg
III. Bacillus mycoides	4,3 mg	276 mg	1336 mg
IV. Bacillus parvus	3 mg	276 mg	5687 mg
V. Bacillus pumilus	6,8 mg	400 mg	1336 mg

Konstruieren wir nach den früheren Gesichtspunkten mit diesen Zahlen wieder eine graphische Darstellung dieser Verhältnisse, so erhalten wir wesentlich weitere Breiten für die Sporenkeimung, bzw. das Wachstum bei verschiedenen Sauerstoffmengen. In Figur 65 ist diese Konstruktion wiedergegeben. Die voll schwarz angelegten Flächen entsprechen den Verhältnissen bei der Sporenkeimung (und annähernd bei dem Wachstum), während die punktierten darüber liegenden Felder diejenigen der Figur 64 in entsprechender Verkleinerung sind. Für den Bacillus amylobacter (I) haben sich die Verhältnisse nicht geändert, daher sind die übereinanderliegenden Wachstums- und Sporenbildungsfelder gleich

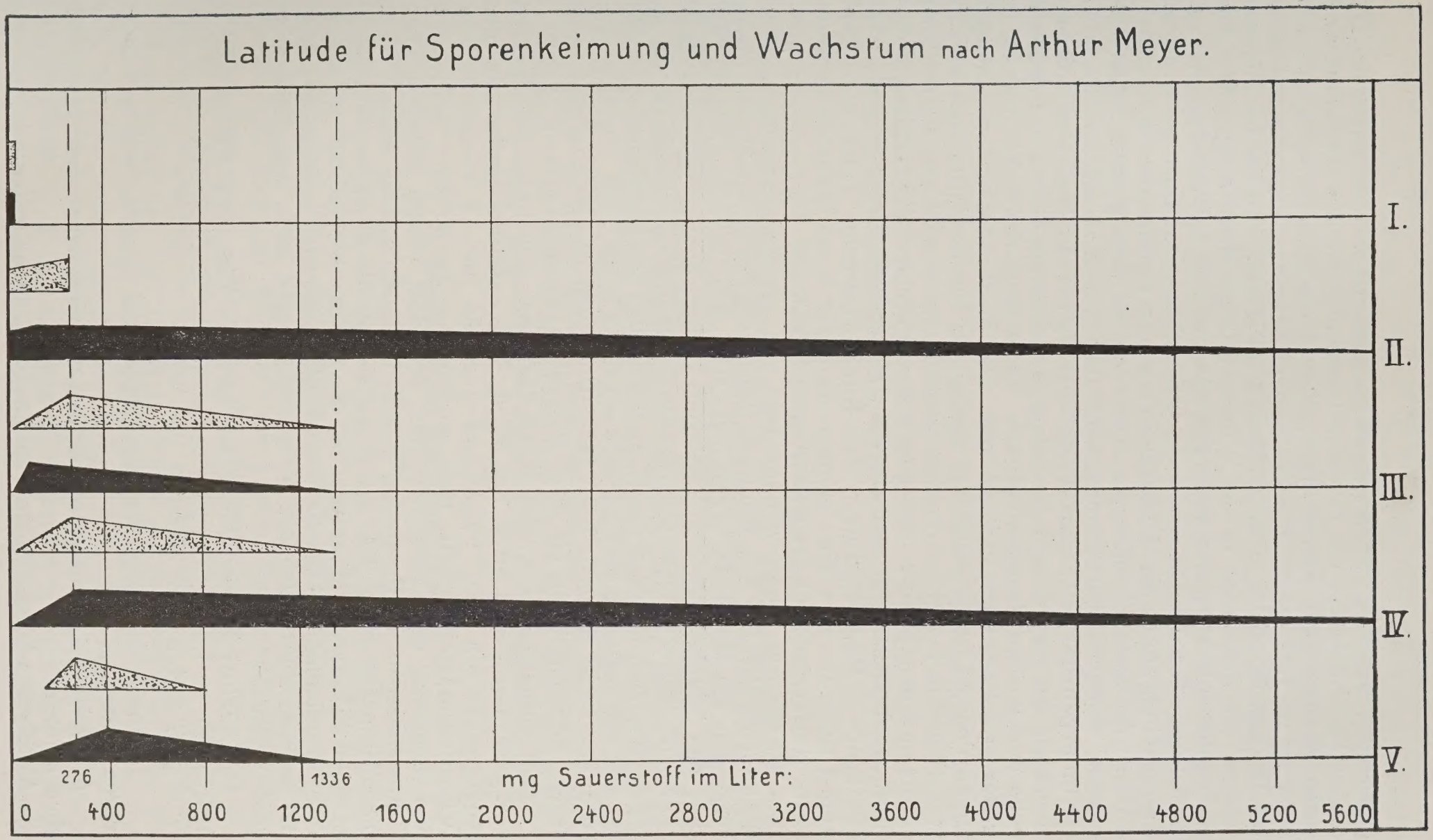

Latitude für Sporenkeimung und Wachstum nach Arthur Meyer.
I.
II.
III.
IV.
V.
276
1336
mg Sauerstoff im Liter:
0
400
800
1200
1600
2000
2400
2800
3200
3600
4000
4400
4800
5200
5600

Fig. 65.

geblieben. Wesentlich anders ist es beim Bacillus arterosporus (II), dessen Latutitude für die Sporenkeimung und für das Wachstum zwischen vollständigem Sauerstoffmangel und einem Sauerstoffgehalt von 5600 mg im Liter liegt. Für die Sporenkeimung liegt das Optimum bei 100 mg, für die Sporenbildung bei 276 mg, also bei der Konzentration, die derjenigen in der atmosphärischen Luft entspricht. Die Oidien dieser Bakterienart verlangen also zum besten Wachstum und zur Entfaltung aller ihrer umsetzenden Lebenstätigkeiten einen geringeren Sauerstoffgehalt der Atmosphäre als zur optimalen Sporenbildung. Anderseits können sie aber noch bei sehr großen Sauerstoffmengen vegetieren und keimen, ohne aber Sporen zu bilden. Der Bacillus mycoides (III) erweist sich in bezug auf das Sauerstoffoptimum gleich wie die vorgenannte Art, dagegen viel empfindlicher in bezug auf hohe und niedere Sauerstoffdrucke. Ohne Spur Sauerstoff vermag er weder zu keimen noch zu vegetieren. Das Sauerstoffmaximum fällt mit demjenigen der Sporenbildung zusammen. Der Bacillus parvus (IV) verhält sich in bezug auf die Wachstumsbreite ungefähr so wie der Bacillus asterosporus. Er hat aber ein sehr niedrigliegendes Sauerstoffminimum und ein um 276 mg befindliches Sauerstoffoptimum. Das Optimum der Sporenbildung fällt also mit dem Optimum des Wachstums und der Sporenkeimung eben beim Sauerstoffgehalt der atmosphärischen Luft zusammen. Das Maximum liegt wieder bei sehr hohen Drucken. Die Wachstumsbreite des Bacillus pumilus (V) ist annähernd gleich derjenigen des Bacillus mycoides (III); wesentlich anders liegt aber das Wachstums- und Keimungsoptimum, das hier einer größeren Sauerstoffkonzentration (200 mg) entspricht, als der in der Atmosphäre, während Bacillus mycoides sein Wachstumsoptimum bei 100 mg aufweist, also unter dem Gehalt der Luft. Die Wachstumsbreite ist übrigens beim Bacillus pumilus bedeutend nach beiden Seiten größer als seine Sporenbildungsbreite.

Wir entnehmen aus allen diesen Befunden, daß beim Wachstum der Bakterien und auch bei ihrer Sporenkeimung der Sauerstoffgehalt ein sehr verschiedener sein und in vielen Fällen außerordentlich große Schwankungen aufweisen kann, bis eine Hemmung des Lebens eintritt. Trotzdem werden immer gewisse Konzentrationen zur Ernährung sich als besonders günstig herausstellen. Dieselben entsprechen eben der Bonalweite des Sauerstoffbedarfs im Sinne A. Meyers. Aber nicht nur die genannten Sporenbildner weisen solche Kardinalpunkte für die Sauerstoffkonzentration auf, sondern auch alle anderen Bakterienarten, auf die aber nicht näher eingegangen zu werden braucht.

Mit Arthur Meyer können wir nach den bisherigen Befunden die Bakterien in bezug auf ihr Verhalten zu freiem Sauerstoff in zwei große Gruppen einteilen:

„I. Anaëroben: Solche Organismen, welche den Sauerstoff entbehren können.

A. Obligate Anaëroben, welche in Luft nicht, aber ohne Sauerstoff leben können."

Als Typus kann der Bacillus amylobacter gelten.

„B. Fakultative Anaëroben, welche sowohl in Luft als auch ohne Sauerstoff dauernd leben können."

Für diese Untergruppe stellt den Typus Bacillus asterosporus vor.

„II. Aëroben: Solche Organismen, welche den Sauerstoff der Luft unbedingt nötig haben."

Unsere früher genannten Arten Bacillus mycoides, Bacillus parvus und pumilus sind verschiedene Vertreter dieser Gruppe.

Nach dem Vorschlage von Arthur Meyer können wir die Gruppeneinteilung für die Praxis noch weiter vereinfachen wenn wir die aërophilen Bakterien den aërophoben gegenüberstellen. Unter ersteren verstehen wir dann jene Bakterienarten, welche in Luft gedeihen, unter letzteren jene Arten, die niemals in Luft sich zu vermehren vermögen.

Wasserstoffquellen stehen den Mikroorganismen ebenfalls im Wasser, in der Luft und in allen organischen Kohlen- und Stickstoffverbindungen reichlich zur Verfügung. Ob tatsächlich eine Aufnahme der Elemente des Wassers stattfindet, wissen wir nicht, der Wasserstoff der Atmosphäre wird z. B. von Bacillus pantotrophus ausgenützt und spielt im Stoffwechsel des Clostridium Pasteurianum eine Rolle.

2. Nahrung der Bakterien.

Für die Ernährung der Bakterien ist das Mischungsverhältnis der Nahrung aus den einzelnen Nahrungsstoffen sehr wesentlich. In allen Fällen ist dieselbe in wässriger Lösung oder Scheinlösung oder in Wasser gequollenem Zustande zu bieten. Die geeignet zusammengesetzte Nahrung bezeichnet man als Nährboden der Bakterien. Im Nährboden können auch ungelöste Verbindungen, wie koaguliertes Eiweiß, Zellulose usw. neben gelösten Nährstoffen vorhanden sein. Erstere werden dann durch die Ektoenzyme der sich entwickelnden Bakterien in lösliche und der Zelle nunmehr zugängliche Abbauprodukte gespalten. Auch die Konzentration des Nährbodens ist von wesentlicher Bedeutung und ebenso die Reaktion desselben.

a) Konzentration des Nährbodens.

Im allgemeinen ist die notwendige Menge der in dem Nährboden gelösten Nahrungsstoffe für Bakterien gering. Dies zeigen viele natürliche Standorte von Mikroben, wie z. B. Brunnenwasser oder Flußwasser, ja selbst Abwässer. Die im Laboratorium üblichen Nährlösungen enthalten meist auch nicht über 3% Trockensubstanz. Immerhin können diese Nährlösungen noch sehr stark verdünnt werden, ohne daß das Wachstum beeinträchtigt würde. Wie gering die Konzentration sein kann, zeigt ein Befund in destilliertem Wasser, das in einer nicht luftdicht verschlossenen Vorratsflasche längere Zeit aufbewahrt war. An der Oberfläche desselben hat sich ein wenig zusammenhängendes Häutchen gebildet, das aus winzigen Stäbchenbakterien bestand. Ein weiteres Beispiel für die geringe Menge notwendiger Nährstoffe bietet die Nährlösung von Voges und Fränkel, welche im Liter nur 5 g Kochsalz, 2 g Natriumphosphat, 6 g Ammoniumlaktat und 4 g Asparagin enthält, also eine Gesamtmenge von 1,7%. Trotzdem läßt sich darauf eine Reihe

von schon etwas anspruchsvolleren Bakterienarten züchten, wie Pseudomonas pyocyanea, Bacillus coli, Bacillus typhi, Bacterium anthracis, Micrococcus pyogenes usw.

Umgekehrt kann ohne Schaden die Konzentration auch wesentlich gesteigert werden. Dabei spielt allerdings die Dissoziationsfähigkeit der betreffenden Verbindung eine sehr wesentliche Rolle. Eingehendere Versuche hinsichtlich der Salzkonzentrationen liegen besonders über verschieden große Zusätze von Kochsalz vor. Nach den Befunden von Pettersson, welcher das Wachstum verschiedener Bakterienarten bei einem Gehalt des Nährbodens von 5, 10 und 15% Natriumchlorid feststellte, verhalten sich die einzelnen Arten dabei sehr verschieden.

Die folgende kleine Zusammenstellung zeigt dies klar:

Spezies:	NaCl 5%	NaCl 10%	NaCl 15%
Micrococcus pyogenes . . .	1 Tag: +++	1 Tag: +++	1 Tag: +
Streptococcus pyogenes . .	8 Tage: —	—	—
Bacillus subtilis	1 Tag: ++	1 Tag: +	1 Tag: —
Bacillus typhi	1 Tag: +	—	—
Bacillus mesentericus . . .	1 Tag: ++	2 Tage: +	—
Bacterium anthracis	2 Tage: +	—	—
Vibrio cholerae	2 Tage: ++	4 Tage: +	—

Bei dieser Versuchsreihe wurde nur auf die Vermehrung Rücksicht genommen. Es verhalten sich aber durchaus nicht alle Lebensfunktionen in dieser Hinsicht gleich. Untersuchungen Matzuschitas haben ergeben, daß das Wachstum durch einen vermehrten Kochsalzgehalt bedeutend weniger gestört wird, als die Sporenbildung.

Für folgende Arten zeigt sich darnach eine Konzentrationsgrenze für Kochsalz in bezug auf

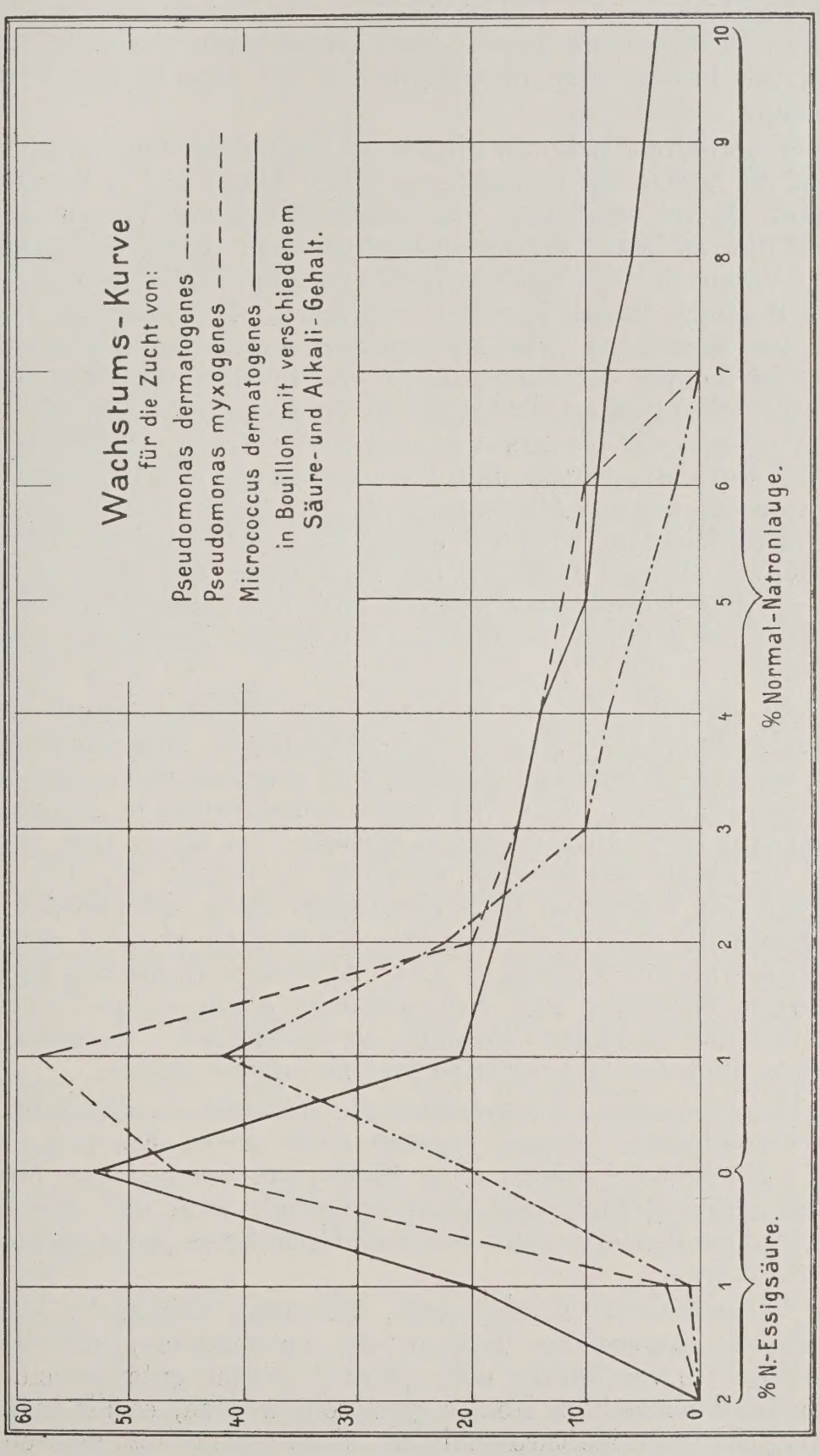
	Wachstum	Sporenbildung
Clostridium butyricum	6,5%	2—4%
Bacillus sporogenes	7,0%	5%
Bacillus botulinus	7,5%	2—5%
Bacillus oedematis	7,5%	6,5%

Es ergibt sich daraus im allgemeinen, daß das Wachstum, bzw. die Vermehrung selbst bei einer Kochsalzkonzentration noch abläuft, bei der eine Sporenbildung nicht mehr statt hat.

In der Natur gibt es aber auch Arten, die an viel größere Salzgehalte normal angepaßt sind. Hier ist in erster Linie an die Meerwasserbakterien zu denken. Man faßt diese salzliebenden Bakterienarten in der physiologischen Gruppe der „halophilen Bakterien“ zusammen.

Die Zucht der Mikroorganismen im Laboratorium gleicht nur in den seltensten Fällen den Kulturen derselben in der Natur. Bei der künstlichen Züchtung in den gewöhnlich benutzten Kulturröhren oder Gläsern ist die zur Verfügung stehende Nährbodenmenge relativ sehr klein. In ihr müssen sich die durch die Stoffwechselprodukte der Bakterien verursachten Konzentrationsänderungen alsbald bemerkbar machen. Die geringe zur Verfügung stehende Flüssigkeitsmenge kann die nötige Verdünnung dieser Stoffe nicht besorgen. Ganz anders liegen die Verhältnisse im fließenden oder auch stehendem Gewässer in der Natur, wo eine rasche Abfuhr und Verdünnung erfolgt. Außerdem tritt in der Laboratoriums-

kultur neben der Konzentrationserhöhung auch die Anhäufung von giftigen Stoffwechselprodukten in den Vordergrund, was bei den Folgerungen aus Laboratoriumsversuchen stets im Auge behalten werden muß.



b) Reaktion des Nährbodens.

Hinsichtlich der Reaktion des Nährbodens verhalten sich die einzelnen Bakterienarten sehr verschieden.

Viele, vielleicht die meisten Bakterien bevorzugen eine sehr schwach alkalische Reaktion des Nährsubstrates. Andere dagegen wachsen bei neutraler Reaktion am besten und wieder andere, gerade technisch wichtige, am besten oder überhaupt nur bei saurer Reaktion der Nährlösung.

Dabei verhalten sich die einzelnen Bakterienarten verschieden in bezug auf die Menge des vorhandenen freien Alkali und in bezug auf die Menge und die Art der Säure. Bei den diesbzüglichen Versuchen müssen natürlich die anderen Wachstumsbedingungen völlig identisch sein, um einen Vergleich der einzelnen Bakterienarten anstellen und dieselben in dieser Hinsicht charakterisieren zu können. Besonders wertvoll sind die mit den erhaltenen Wachstumsgrößen angefertigten Kurven. Die vorstehenden Kurven des Wachstums (S. 145) für drei von Fuhrmann genauer untersuchte Bakterienarten lassen die Ansprüche bzw. die Toleranz derselben in bezug auf Essigsäure und Natronlauge erkennen. Pseudomonas dermatogenes und Pseudomonas myxogenes verhalten sich in bezug auf das Alkaleszenzoptimum gleich. Das Wachstumsoptimum in Bouillon wird bei einem Gehalte derselben von ca. 1% Normal-Natronlauge erreicht, das Minimum bei einer Menge von weniger als 2% Normal-Essigsäure und 7% Normal-Natronlauge. Der Verlauf der Kurven ist allerdings in beiden Fällen ein etwas verschiedener.

Anders verhält sich der Micrococcus dermatogenes in bezug auf sein Alkaleszenzoptimum und -maximum. Das Säuremaximum, das eben noch eine Vermehrung zuläßt, liegt etwa bei einem Gehalte unter 2% Normalessigsäure. Das Wachstumsoptimum in Bouillon wird bei neutraler Reaktion derselben erreicht. Im übrigen ist diese Bakterienart für Alkali sehr tolerant, da selbst ein Gehalt von 10% Normalnatronlauge das Wachstum noch keineswegs völlig unterdrückt. Wenn wir an Stelle des Natriumhydroxydes Kaliumhydroxyd verwenden, so ändert sich an den Kurven nichts. Anders ist es bei den Säuren, da beispielsweise Salzsäure oder Schwefelsäure schon in niedereren Konzentrationen das Wachstum hemmen als Essigsäure. Dasselbe gilt im allgemeinen auch für Milchsäure und Bernsteinsäure.

Die Untersuchungen Fermis über die Wirkungen verschieden großer Zusätze verschiedener Säuren ergeben einen guten Einblick. Fermi ermittelte die kleinste Menge einer Säure, bei welcher das Wachstum der untersuchten Bakterienart eben eingestellt wird und erhielt dabei für verschiedene Bakterienarten folgende Grenzwerte (siehe obenstehende Tabelle S. 147).

Der Versuch wurde so angestellt, daß obige Zahlen die einer Glyzerinagurkultur zugesetzten Tropfen der betreffenden, auf die angegebenen Prozente verdünnten oder gelösten Säuren entsprechen. Wenn auch die dabei gemachten Fehler groß sein werden, erhält man durch dieses vergleichende Kulturexperiment doch einen brauchbaren Überblick über die Wirkung der verschiedenen geprüften Säuren.

Species:	HCl			H_3BO_3	$CH_3 CHOH CO_2H$	$C_3H_4(OH)(CO_2H)_2 + H_2O$	$CO_2H.CHOH.CHOH.CO_2H$	$HO_2C.CO_2H + 2H_2O$
	10%	5%	2%	4%	10%	10%	10%	10%
Micrococcus pyogenes aureus . . .	5	9	15	9	4	3	3	2
Sarcina lutea	4	7	12	6	3	3	2	2
Bacillus proteus	7	12	22	9	5	5	3	2
Bacillus prodigiosus	3	5	11	7	4	5	3	3
Bacillus syncyaneus	5	9	14	7	4	3	3	3
Pseudomonas pyocyanea	4	8	14	7	3	3	3	3
Bacterium anthracis	4	6	10	9	4	3	2	2
Bacillus subtilis	4	7	11	11	4	4	3	2
Bacillus megatherium	3	6	10	10	4	4	3	3

Für genauere Untersuchungen, um einwandfreie Vergleichsergebnisse zu erhalten, empfiehlt sich als Maß die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration der Nährsubstrate. Die Wasserstoffzahlen (p_H) der verwendeten Nährböden ergeben exakte Anhaltspunkte für Grenzkonzentrationen. Die Versuche sind auch leicht reproduzierbar. Stickdorn hat Ergebnisse über die Beeinflussung der Vermehrung durch die Wasserstoffzahl mitgeteilt und vergleichsweise auch die Reaktion dieser Nährböden mit Lackmus und Phenolphtalein beigefügt. Die Wachstumsstärke ist durch die Anzahl der eingesetzten Pluszeichen in der Weise angedeutet, daß die beste Vermehrung drei und die geringste ein Pluszeichen markiert. Als Nährboden dient eine Fleischabkochung.

Kultur Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Wasserstoffzahl p_H	6,8	7,0	7,2	7,3	7,5	7,7	7,9	8,0	8,2	8,4
Reaktion mit Lackmus	amph.	amph.	hell-blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau	blau
Reaktion mit Phenolphthalein	farb-los	farb-los	farb-los	farb-los	farb-los	Um-schlag	rosa	rosa	rosa	rot
Bacillus typhi . . .	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
Bacterium aclaligenes	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
Bacillus coli . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Bacterium anthrac.	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	++	+
Micrococcus pyogenes	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Streptococcus pyogenes	+	+	++	++	+++	+++	++	+	+	+

Die Tabelle zeigt das verschiedene Verhalten der untersuchten Bakterien hinsichtlich der Weite von Alkalitätsgraden für gutes Wachstum. Verhältnismäßig eng begrenzt ist das Alkalitätsoptimum des An-

thrax- und Typhusbakteriums und des Streptococcus pyogenes, während der Bacillus coli ein außerordentlich weites Wachstumsoptimum zeigt.

c) Nährwert des Nährbodens.

Der Nährwert eines Substrates kann entweder in seiner Summe dadurch bestimmt werden, daß man die Menge der in einer bestimmten Zeit auf demselben angegangenen Bakterienmenge als Trockensubstanz auf 100 g der verbrauchten Nährstoffe berechnet oder diese Rechnung nur für einen bestimmten einzelnen Nährstoff ausführt. So bestimmt man nach dem Vorgange von Pfeffer in bezug auf die Kohlenstoffquelle den ökonomischen Koeffizienten einer Nährlösung. Derselbe ist die Zahl, welche angibt, wie viel Gramm Trockensubstanz der untersuchten Bakterien für 100 g verbrauchte Kohlenhydrate entstanden sind.

Der Nährwert kann auch durch kleinste Mengen einer Reihe von Stoffen gefördert werden, die in größeren Dosen als kräftige Gifte wirken. Sie sind an sich keine Nährstoffe, sondern scheinen eine das Wachstum anregende Wirkung auszuüben. Auch gewisse eigene Stoffwechselprodukte vermögen bei manchen Bakterienarten die Vermehrungsgeschwindigkeit zu steigern. In diesem Falle spricht man von „Autobiose". Diese Autobiose zeigt der Vibrio cholerae, der in einer vorher von Choleravibrionen bereits bewachsenen und dann sterilisierten Nährlösung besser gedeiht, als in der gleichen frisch bereiteten Nährlösung. Auch bei einigen Leuchtbakterien aus Meerwasser kann man hinsichtlich der Vermehrung ähnliches bei der Verwendung von Nähragar beobachten. Der Wert eines Nährbodens für eine bestimmte Bakterienart kann durch das gleichzeitige Wachstum einer zweiten Art für die erste wesentlich geändert werden. In solchen Mischkulturen kann eine Verbesserung des Nährsubstrates für die erste Bakterienart oder eine Verschlechterung auftreten. Im ersteren Falle spricht man von einer „Metabiose" und im letzteren von einer „Antibiose". Ein Beispiel einer Metabiose gibt die gleichzeitige Kultur einer aeroben und anaeroben Bakterienart in einer Nährlösung, zu der die Luft zutritt hat. Es wird durch die Lebenstätigkeit der luftliebenden Bakterien der Nährboden sauerstoffrei und geeignet für die gleichzeitige Entwicklung der luftscheuen Organismen. Für die Antibiose bildet die gleichzeitige Zucht von Choleravibrionen und Pyocyaneusbakterien in ein und derselben Nährlösung ein Beispiel. Anfangs entwickeln sich beide gleich; aber schon nach kurzer Zeit wird durch die Stoffwechselprodukte der Pseudomonas pyocyanea der Nährboden für die Choleravibrionen verschlechtert und ihre Zahl nimmt immer mehr ab, bis sie endlich gänzlich verschwinden. Wir haben in diesem Falle eine Beeinflussung der Choleravibrionen durch artfremde Stoffwechselprodukte, welche Erscheinung man als hetero-antagonistische Wirkung bezeichnet. Geschieht die Beeinflussung durch arteigene Stoffwechselprodukte, wie in jeder Reinkultur, spricht man von einer isoantagonistischen Wirkung.

Die vorgebrachten Überlegungen über den Nährwert von Substraten und die bisher gesammelten Erkenntnisse gestatten den Schluß, daß die Mikroorganismen einerseits in ihren Ansprüchen an einen Nährboden außerordentlich verschieden sind und andererseits bei der künstlichen

Reinkultur im Laboratorium und bei der Gewinnung der einzelnen Bakterienarten die chemischen und physikalischen Zustände der natürlichen Standorte genau beachtet werden müssen. Damit ist auch schon gesagt, daß es absolut keinen Universalnährboden geben kann, auf dem jede Bakterienart zu gedeihen vermöchte. Dies gibt wieder Winke für die Gewinnung der Bakterien überhaupt und für die Möglichkeit, möglichst viele der bisher nicht rein züchtbaren Arten doch endlich in Reinkultur zu erhalten. Es tritt bei den Bakteriologen immer das Bestreben hervor, durch Schaffung besonders günstiger Ernährungsbedingungen für eine einzelne Bakterienart das Überhandnehmen derselben über gleichzeitig vorhandene Begleitbakterien zu fördern und sie so endlich rein zu halten. Dieser Sinn liegt auch der von Winogradsky inaugurierten „elektiven Kulturmethode" zugrunde, mit der schon reiche Erfolge auf vielen Gebieten der Bakteriologie erhalten wurden. Auch sie sucht den Nährboden gerade den Bedürfnissen jener Mikroorganismen möglichst anzupassen, deren Gewinnung beabsichtigt ist.

3. Physikalische Einflüsse auf das Bakterienwachstum.

Der günstig zusammengesetzte Nährboden an sich verbürgt noch keineswegs ein optimales Wachstum der Bakterien. Dazu sind auch die entsprechenden physikalischen Zustände der Umgebung notwendig, durch die in vielen Fällen eine günstige oder ungünstige Beeinflussung der Vermehrung und des Ablaufes aller Lebensvorgänge erfolgt.

a) Thermische Einwirkungen.

Von größter Bedeutung für den normalen Ablauf des Bakterienlebens ist die in den Kulturen herrschende Temperatur. Auch hier können wir drei Kardinalpunkte festlegen: das Temperaturoptimum, bei welchem die maximale Vermehrung erfolgt, das Temperaturminimum, das ist die niederste Temperatur, bei der eben noch eine äußerst langsame Vermehrung statthat, und endlich das Temperaturmaximum, jene Höchsttemperatur, die gerade noch ein Wachstum zuläßt. Bezüglich dieser drei Kardinalpunkte kann man ganz allgemein sagen, daß ein Überschreiten nach unten hin in sehr weiten Grenzen erfolgen kann, ohne daß es zu einer Tötung der Zellen kommt, während schon wenige Grade betragende Erhöhungen der Temperatur über das Maximum derselben sehr schwer schädigen und alsbald töten.

Für die einzelnen Bakterienarten liegen die Kardinalpunkte außerordentlich verschieden. Unter Zugrundelegung des Temperaturoptimums können wir trotzdem mit A. Fischer[1]) die Bakterien in drei große Gruppen einteilen:

„1. Das Optimum liegt bei Zimmer- oder Sommertemperatur (20—30° C): alle bei uns im Freien lebenden proto- und metatrophen Bakterien.

2. Das Optimum liegt bei Brüttemperatur (Bluttemperatur der Megathermen)": Hierher gehören im allgemeinen die tierpathogenen Bakterienarten.

---

1) Nach Fischer, Vorlesungen über Bakterien, Jena 1903, Seite 106.

„3. Das Optimum liegt bei der Koagulationstemperatur mancher Eiweißkörper: die sonderbare Gruppe der thermophilen Bakterien."

Diese Gruppen sind durch eine Reihe von Zwischengliedern verbunden, so daß natürlich eine strenge Sonderung unmöglich erscheint. Außerdem müssen wir in Betracht ziehen, daß es Bakterien gibt, die ihr Optimum allerdings bei sehr hoher Temperatur, etwa 50° haben, die sich aber auch bei niedrigeren Temperaturen gut vermehren. Sie können wir mit Schillinger als thermotolerant bezeichnen zum Unterschied von den Orthothermophilen, die auch ein sehr hochliegendes Minimum aufweisen.

Vollständige Gegenstücke in bezug auf niedere Temperaturen finden wir nicht, da selbst die sog. psychrophilen Bakterien, die noch gut auch bei Temperaturen um 0° wachsen, dennoch ihr Optimum meist zwischen 10 und 15° C aufweisen. Wir können sie höchstens mit den thermotoleranten Bakterien in Analogie stellen und sie deshalb als psychrotolerant bezeichnen.

Einige Beispiele für die Temperaturweite von Bakterien gibt folgende kleine Zusammenstellung:

	Minimum	Optimum	Maximum
Bacterium oxydans . . .	8° C	18—21° C	30—33° C
Bacterium acetosum . . .	8° C	28° C	36° C
Pseudomonas photogena	0° C	16° C	26° C
Bacillus calfactor	30° C	60° C	70° C
Influenzabazillus	27° C	37° C	43° C

Versuchen wir die in der kleinen Tabelle niedergelegten Befunde bildlich darzustellen, so bekommen wir über die Temperatureinflüsse auf verschiedene Bakterien in bezug auf das Wachstum eine bessere Vorstellung. Unsere Figur 66 gibt diesen Versuch wieder. Die Spitze

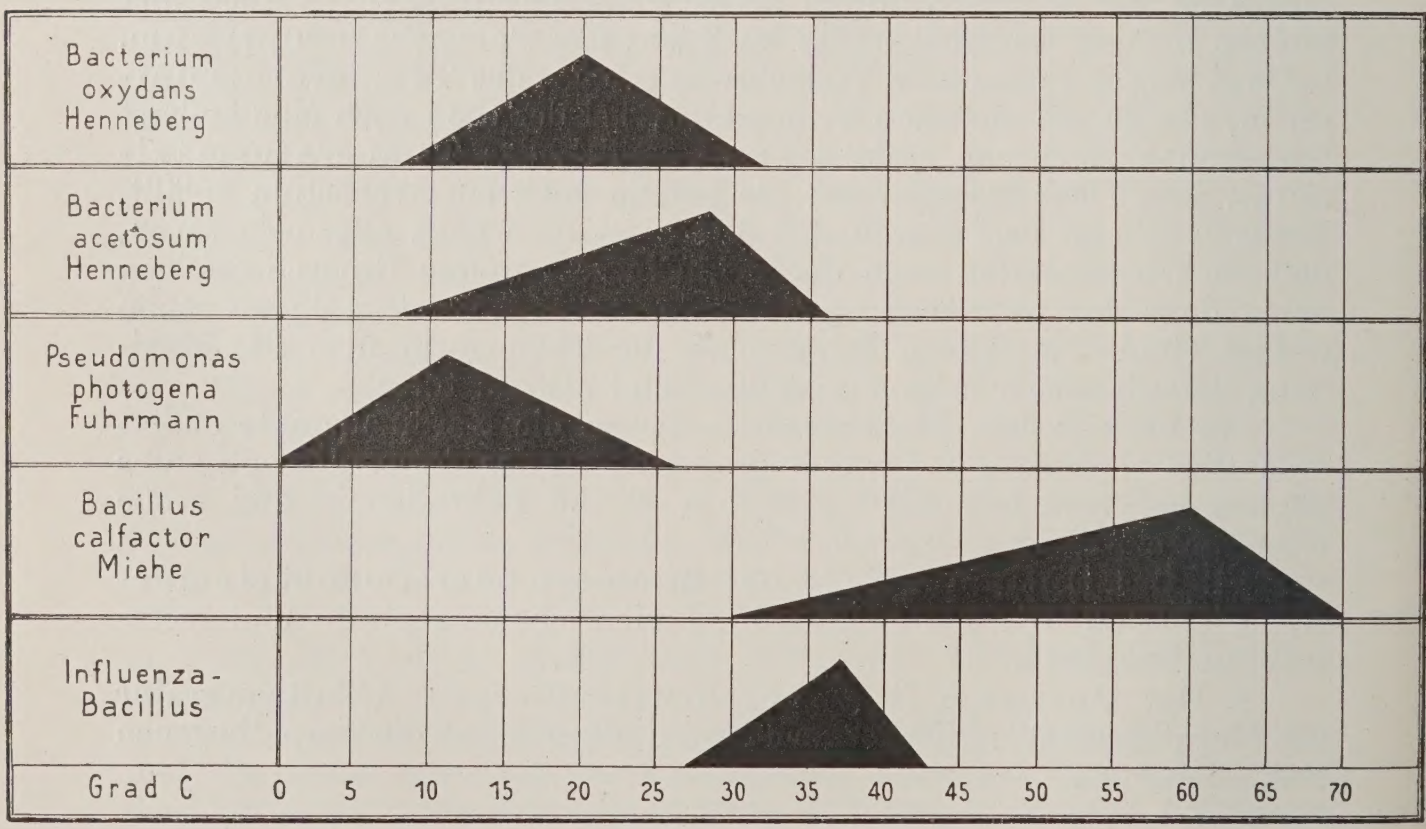


Fig. 66.

der schwarzen Dreiecke entspricht dem Temperaturoptimum, während an deren Basis die Ecken links das Minimum und rechts das Maximum markieren. So sind die Wachstumstemperaturweiten der hier verzeichneten Arten gut kenntlich. Es handelt sich hier um ein Schema, da der Abfall vom Optimum zum Minimum und Maximum in der Wirklichkeit gewiß keiner Geraden entspricht, sondern einer krummen Linie. Auch sind hier die Wachstumsoptima willkürlich überall gleich gewählt, was eigentlich auch nicht der Fall ist.

Wenn wir die Untersuchungen über die Temperatureinwirkungen auf die Sporenkeimung und besonders Sporenbildung ausdehnen, dann erhalten wir wesentlich andere Minima, Optima und auch Maxima. Im allgemeinen ist die Temperaturweite enger und das Optimum etwas nach unten verschoben.

Über den Einfluß extremer Temperaturen wurden viele Untersuchungen angestellt, die im allgemeinen zu dem Ergebnis führten, daß die Lebensfähigkeit durch hohe Temperaturen schnell erlischt, während sehr niedrige Temperaturen verhältnismäßig gut selbst durch längere Zeit ertragen werden, ohne daß die Lebensfähigkeit geschädigt wird.

Gegen sehr niedrige Temperaturen, sog. inframinimale Temperaturen sind die meisten Bakterien und Sporen äußerst widerstandsfähig. Dabei ist es einerlei, ob sie psychrophil oder psychotolerant sind. So haben Versuche mit Micrococcus pyogenes ergeben, daß derselbe selbst nach einer wochenlangen Aufbewahrung im zugeschmolzenen Rohr bei einer Temperatur von —80° C noch entwicklungsfähig war. Man kann Bakterien und deren Sporen selbst 20 Stunden bei Temperaturen von —172 bis —190° aufbewahren, ohne sie zu töten oder auch nur in der Entwicklungsfähigkeit zu schädigen. Nach Macfadyen und Rowland sollen Milchbakterien einen einwöchentlichen Aufenthalt in flüssiger Luft schadlos überdauern. Selbst eine zehnstündige Abkühlung in flüssigem Wasserstoff, also bei —252° C, konnte diese Mikroorganismen nicht vernichten.

Ein Absinken der Temperatur unter das Temperaturminimum der betreffenden Bakterienart führt zuerst zu einer sehr beträchtlichen Verlangsamung der Teilungen. Weiter fallende Temperaturen führen dann zum Ausfall verschiedener die Lebensvorgänge begleitender Erscheinungen, wir zum Beipsiel des Leuchtens bei Photobakterien. Schließlich herrscht nur mehr eine Art latenten Lebens in der Zelle. Die Reaktionsgeschwindigkeiten beim Stoffumsatz werden immer kleiner und nähern sich bei der Temperatur des flüssigen Wasserstoffes schon sehr dem Nullwert. Damit ist ein fast vollständiger Stillstand im Ablauf der Lebensvorgänge erreicht, der allmählich wieder in die normale Zelltätigkeit durch Wärmezufuhr übergeleitet werden kann, sofern durch Eiskrystallbildungen in der Zelle nicht eine mechanische Schädigung eingetreten ist.

Im allgemeinen sind die Bakterien gegen supramaximale Temperaturen, die also über dem Maximum liegen, wesentlich empfindlicher. Diese Empfindlichkeit ist aber bei den einzelnen Arten sehr verschieden. Außerdem besteht ein großer Unterschied zwischen der Resistenz der vegetativen Bakterienformen und der Widerstandsfähigkeit der Sporen.

Im allgemeinen führen kurz dauernde Temperaturerhöhungen von 10—15 Graden über das Maximum bei ersteren den Tod derselben herbei, während letztere hoch über die Koagulationstemperatur längere Zeit hindurch ohne Schädigung erhitzt werden können. Es ist dabei auch von größter Bedeutung, ob die Zellen in trockenem oder feuchtem Zustande der Hitze ausgesetzt werden. Im ersteren Falle werden sie im allgemeinen höhere Temperaturen ertragen als durchfeuchtet. Dies gilt auch vollauf für die Sporen.

In Wasser genügt im allgemeinen eine halbstündige Erwärmung auf 50—70° C, um alle vegetativen Bakterienzellen zu vernichten, wenn wir von den wenigen thermophilen Bakterien absehen, die sich bei Temperaturen gegen 70° noch vermehren.

Viel widerstandsfähiger sind die Sporen der Bakterien. Man muß viel höhere Temperaturen anwenden. So hat Blau für eine Reihe von Sporen die Tötungszeit bei Anwendung von 100° in Wasser ermittelt. Einige Daten seien daraus hier wiedergegeben.

	Tötungszeit in Minuten	
Bacillus Ellenbachensis	$2—2^1/_2$	
Bacillus cohärens	$5—5^1/_2$	
Bacillus asterosporus	$7—7^1/_2$	
Bacillus megatherium	15—16	
Bacillus subtilis	175—180	
Bacillus calidus	450—480	= $7^1/_2$—8 **Stunden**
Bacillus tostus.	1140—1200	= **19—20 Stunden.**

Wir entnehmen aus dieser kleinen Zusammenstellung, das die Tötungszeit für die Sporen der einzelnen Bakterienarten bei 100° sehr verschieden ist, die Resistenz der Sporen aber außerordentlich groß sein kann, wie beim Bacillus tostus. Allerdings sind die beiden letztgenannten Arten thermophile Erdbakterien.

Die durch Wärmewirkungen erreichten Tötungszeiten können durch die Anwendung höherer Temperaturgrade, wie sie im gespannten Wasserdampf herrschen, bedeutend verkürzt werden. Auch die Anwesenheit von freien Säuren oder Alkalien unterstützt sehr wesentlich die Wärmewirkung. Von diesen Erkenntnissen macht man in der Sterilisations- und Desinfektionstechnik ausgiebigen Gebrauch.

b) Wirkungen des Lichtes.

Gegen Lichtwirkungen im allgemeinen verhalten sich die Bakterien sehr verschieden. Dabei spielt noch die Qualität der Lichtstrahlen eine sehr wesentliche Rolle. Auch hier kann allgemein gesagt werden, daß die schädliche Wirkung mit der Abnahme der Wellenlänge des Lichtes steigt.

1. Sonnenlicht.

Das direkte Sonnenlicht enthält neben den sichtbaren Strahlen des Spektrums noch reichlich ultraviolette Strahlen. Es wirkt sicherlich auf das Bakterienwachstum hemmend, bzw. bei genügend langer Einwirkungsdauer auch bakterientötend. Bei allen Wirkungen darf aber nicht vergessen werden, daß der Nährboden selbst durch die Lichtwirkungen in seiner Zusammensetzung Veränderungen erleiden kann, die dann indirekt sich auf das Bakterienwachstum auswirken.

Daher muß zwischen den Lichtwirkungen auf die Zelle selbst und die durch das Licht verursachten Nährbodenänderungen unterschieden werden. So konnte Dieudonné zeigen, daß auf einer dem Sonnenlicht ausgesetzten sterilen Agarplatte Wasserstoffsuperoxyd entsteht, welches für das Bakterienwachstum sehr schädlich wirkt. Anderseits sollen die bakteriziden Wirkungen des Sonnenlichtes nach Miramond de Laroquette ihre Ursache darin haben, daß die zu erhebliche Speicherung von Lichtenergie in den Zellen zu einem heftigen hydrolytischen Abbau des Eiweißes und damit verbundenem Zerfall der lebenden Substanz führt.

Dem Licht gegenüber nehmen die Purpurbakterien eine Ausnahmestellung ein, indem sie dasselbe im Stoffwechsel offenbar verwerten. Nach Molisch soll es sich dabei um eine neue Art von Photosynthese handeln, „bei der **organische** Substanz im Lichte assimiliert wird". Für diese Bakterien ist die Lichtbestrahlung also günstig, wenn sie auch nicht notwendig ist, da Purpurbakterien auch im Finstern wachsen.

2. Wirkungen der ultravioletten Strahlen.

Besonders bakterizid erweisen sich die kurzwelligen Strahlen. Bei allen diesen Versuchen ist nur zu beachten, daß Glas gerade die wirksamsten, ganz kurzen Wellen vollständig absorbiert. Für solche Experimente sind daher nur Gefäße aus durchsichtigem Quarz oder mindestens Uviolglas brauchbar, um einwandfreie Ergebnisse zu erhalten.

Als Lichtquelle für die Untersuchung der Wirkung kurzwelliger Strahlen kommen in erster Linie die Quecksilberdampflampe im Quarzgefäß und die elektrische Bogenlampe mit eisenimprägnierter Kohle oder Eisenstäben als Elektroden in Frage. Dadurch ist es möglich, Wellenlängen bis herunter zu 300 $\mu\mu$ anzuwenden.

Interessant sind die Versuche von Charin und Nicolai, denen folgende Vergleichszusammenstellung entnommen ist:

Bakterienart	Tötungszeit bei Bestrahlung mit Bogenlicht ca. 1000 Watt in 120 mm Abstand bei	
	Kohlenelektroden:	Eisenelektroden:
Bacterium anthracis	270 Sekunden	60 Sekunden
Micrococcus pyogenes aureus	240 „	12 „
Pseudomonas pyocyanea	180 „	12 „
Bacillus coli	300 „	25 „
Bacillus tuberculosis	210 „	25 „

Der Vergleich ergibt einerseits die Verschiedenheit des Verhaltens der untersuchten Bakterienarten gegenüber der Bogenlichtwirkung überhaupt und die andererseits ungleich größere bakterizide Kraft des an ultravioletten Strahlen reichen Eisenlichtes gegenüber derjenigen des gewöhnlichen Kohlenlichtbogens.

Für Untersuchungen der Wirkung sehr kurzwelliger Strahlen auf einzelne Zellen ist das elektrische Funkenlicht besonders geeignet, das mit Quarzprismen spektral zerlegt die Anwendung eines eng begrenzten ultravioletten Strahlenbezirkes gestattet. Mit dem mit Quarzoptik ausgestatteten Mikroskop kann man mit einer Hilfsbeleuchtung an beweglichen Bakterien, z. B. dem Bacillus prodigiosus, bei Anwendung von Cadmiumelektroden bei einer Wellenlänge $\lambda = 275$ $\mu\mu$ beobachten, daß

zu Beginn der Bestrahlung die Bewegung lebhafter wird. Schon nach wenigen Minuten stellen diese Bakterien die Bewegung ein. Von solchen hängenden Tropfen angelegte Abimpfungen ließen keine Kolonien entstehen. Die Bakterien waren samt und sonders getötet.

c) Wirkung der Radiumstrahlen.

Die von radioaktiven Substanzen ausgehenden Strahlungen setzen sich aus α-, β- und γ-Strahlen zusammen, die in ihrer Natur wesentlich verschieden sind. Die α- und β-Strahlen sind fliegende materielle Teilchen, während die γ-Strahlen sehr kurze Ätherwellen vorstellen, die den Röntgenstrahlen gleichen, nur von noch kürzerer Wellenlänge sind. Die Untersuchungen über die Wirkung dieser Strahlungen auf das Bakterienwachstum, bzw. über die bakteriziden Eigenschaften derselben, hat zu sehr auseinandergehenden Befunden geführt. So sollen in erster und einziger Linie gerade die α- und β-Strahlen, also korpuskuläre Strahlungen, eine besondere bakterizide Wirkung ausüben, während die harten γ-Strahlen allein auf Bakterien fallend, fast wirkungslos sind. Deshalb soll sich auch die an α-Strahlen besonders reiche Strahlung des Thorium X als hervorragend bakterizid zeigen.

d) Wirkung der Röntgenstrahlen.

Über die Wirkung der **Röntgenstrahlen** auf Bakterien gehen die Meinungen der Forscher stark auseinander. Während die einen ihnen für Mikroorganismen besonders deletäre Eigenschaften zusprechen, wollen die anderen höchstens sehr geringe Schädigungen wahrgenommen haben. Übrigens stehen eingehende und erschöpfende Versuche darüber noch aus. Hier scheint wie beim elektrischen Strom ebenfalls eine Wirkung auf die Zusammensetzung des Nährsubstrates stattzufinden, die in erster Linie für die beobachteten Schädigungen vielleicht verantwortlich gemacht werden kann. Ihnen selbst scheint eine besondere, vernichtende Kraft für Mikroben kaum innezuwohnen.

e) Wirkung der Elektrizität.

Galvanische und statische **Elektrizität** scheint an sich keine Wirkung auf das Bakterienwachstum zu äußern, sofern Vorsorge getroffen ist, daß durch den Strom einerseits keine Erwärmung der Bakterienkultur eintritt und anderseits elektrolytische Umsetzungen im Nährsubstrat ausgeschlossen sind. Besonders die bei der Elektrolyse gebildeten Produkte töten die Mikroben in kurzer Zeit, was natürlich eine unmittelbare Beeinflussung durch den elektrischen Strom vortäuschen kann. Auch in dem Nährboden induzierte Ströme scheinen keinen bemerkenswerten Einfluß auf das Wachstum auszuüben.

f) Mechanische Wirkungen.

Man hat weiter versucht, durch **hohe Drucke** Bakterien zu vernichten. Dabei hat es sich herausgestellt, daß die Mikroben durch dieselben nur sehr gering geschädigt werden, wenn die Versuchsdauer keine allzulange war. Man hat ja auch unter den in der Natur freilebenden Bakterien zahlreiche Beispiele, wo Mikroben dauernd unter sehr hohem Drucke

leben. So wurde die Tatsache festgestellt, daß sich im Schlamme des mittelländischen Meeres bis zu Tiefen von 1100 m noch eine üppige Bakterienflora findet. Allerdings herrschen in diesem Meere auch noch in solchen Tiefen insofern günstige Temperaturbedingungen, da das Wasser noch immer 13° C aufweist. Daß in anderen Meeren in dieser Tiefe Bakterien spärlich zu finden sind, hat wohl weniger seinen Grund in dem herrschenden Drucke als vielmehr in der zu niedrigen Temperatur. Aber auch aus den Laboratoriumsversuchen geht hervor, daß höchstens abnorm hohe Drucke von etwa 3000 kg auf den Quadratzentimeter bei längerer Versuchsdauer sicher schädigend wirken, während einige hundert Atmosphären noch nicht schädigen, sofern nicht besondere Verhältnisse geschaffen werden. Natürlich werden sauerstoffscheue Organismen dann getötet, wenn ihre Kultur in reinem Sauerstoff hohen Drucken ausgesetzt wird. Hier wirkt übrigens nicht der Druck an sich, sondern die dadurch geschaffene Sauerstoffkonzentration, denn bei der Verwendung anderer Gase, wie Kohlensäure oder Wasserstoff, fällt der Versuch wesentlich anders aus. Erstere scheint auch unter hohem Druck angewendet, kaum keimtötende Eigenschaften zu besitzen. Verminderter Druck schädigt die Bakterien an sich auch nicht, sofern dadurch nicht eine allzugroße Verdünnung des Sauerstoffes bei luftliebenden Mikroben herbeigeführt wird.

Hinsichtlich der Wirkung von **Erschütterungen** lassen sich allgemeine Angaben nicht machen, da sich diesen gegenüber die Bakterien sehr verschieden verhalten. Man kann vielleicht mit einiger Vorsicht nur sagen, daß grobe, fortgesetzte Erschütterungen zu einem Wachstumsstillstand und schließlich zum Tode der Bakterien führen, während feine, geringe Erschütterungen günstig einwirken. Dies gilt vornehmlich für die in flüssigen Nährsubstraten wachsenden Bakterien, während die Wirkungen auf die in festen Nährböden gezüchteten Mikroben gering sind. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich dabei um rein mechanische Vorgänge, wie Aneinanderstoßen und Reiben der Zellen, was eine Schädigung mit der Zeit herbeiführt. Die günstige Wirkung geringer Erschütterungen und Bewegungen sind sicherlich zum Teil auch auf die ständige Durchmischung und, wenn auch nur minimale Durchlüftung des Nährbodens zurückzuführen. Die einzelnen Bakterienarten erweisen sich gegen diese mechanischen Einflüsse sehr verschieden, denn einige sind dafür sehr empfindlich, wie z. B. der Bacillus megatherium, der schon durch länger dauernde schwache Erschütterung vernichtet wird, während andere sich als sehr resistent erweisen. Zur letzteren Kategorie gehören vornehmlich Wasserbakterien, wie der Bacillus fluorescens liquefaciens. Dieselben sind ja auch an ihren natürlichen Standorten ständigen Bewegungen ausgesetzt, was ganz besonders bei den in fließendem Wasser wohnenden zutrifft. Jedenfalls ist auf die Möglichkeit der Schädigung von Bakterien bei der Anlage von Laboratorien in Fabriken Bedacht zu nehmen und dafür erschütterungsfreie Lokale auszuwählen.

4. Baustoffwechsel der Bakterien.

Der Baustoffwechsel umfaßt alle jene Vorgänge in und um die Zelle, welche mit der Verarbeitung der plastischen Nährstoffe, also der Zellbaustoffe, zusammenhängen.

Man bezeichnet nun die Umwandlung der zugänglichen Nahrung in die Leibessubstanz der Zelle als Assimilation und die im Leben immer auftretenden Abbauprozesse minder glücklich als Dissimilation, oder besser einfach als Zersetzungsvorgänge. Auch diese beiden Prozesse sind naturgemäß innig miteinander verknüpft und sollen hier aus Gründen der leichteren Besprechung auseinander gehalten werden.

Wie nun die Assimilation in ihren Phasen vor sich geht, wissen wir keineswegs, obwohl darüber einige Hypothesen bereits aufgestellt sind. Wir kennen zurzeit nur die dabei auftretenden Endprodukte und vielleicht einige Begleitprodukte; unter letzteren wollen wir Stoffe verstehen, die für die Zelle selbst entweder eine Bedeutung besitzen oder nicht, selbst aber auch losgetrennt von der lebenden Zelle noch dieselben Eigenschaften und Wirkungen äußern, wie im Verein mit der lebenden Zelle. Die Endprodukte sind das lebende Eiweiß, einschließlich der Nukleinverbindungen und die Haut und Gerüstsubstanzen der Zelle, soweit sie einen integrierenden Zellbestandteil ausmachen. Die Bakterienmembran gehört ebenfalls hierher als lebenswichtige Zellorganelle. Zu den Begleitprodukten können wir als lebenswichtige aber selbst nicht lebende Substanzen die verschiedenen Enzyme rechnen, die Farbstoffe der Bakterien als meist bedeutungslose Nebenprodukte usw. Die Ausgangsprodukte, an denen die Assimilation einsetzt, sind uns für die Pilze kaum bekannt, da wir wohl wissen, welche Verbindungen und in welcher Konzentration wir dieselben den Mikroorganismen zur Verfügung stellen müssen, nicht aber in welchem Zustande des Abbaues sie der Assimilation unterliegen oder ob sie sich zum Teil auch unzerlegt an der Synthese beteiligen.

Ganz allgemein handelt es sich bei den Stoffwechselvorgängen um Oxydationen, Reduktionen, Hydratationen, Anhydridbildungen, Kondensationen und Synthesen. Viele dieser chemischen Reaktionen werden, wie schon früher angedeutet, enzymatisch beschleunigt.

Einen weit verbreiteten Oxydationsprozeß im Stoffwechsel bilden die Oxydationen von Kohlehydraten, wie beispielsweise der Dextrose, wobei entsprechend der Menge des eingeführten Sauerstoffes die Oxydation vollständig oder unvollständig unter Bildung verschiedener Oxydationsprodukte verläuft. Folgende Beispiele mögen den Vorgang kurz illustrieren:

$C_6H_{12}O_6 + O = CH_2OH . (CHOH)_4 . COOH$ (Glukonsäure)

$C_6H_{12}O_6 + 2\,O = CHO . (CHOH)_4 . COOH + H_2O$ (Glukuronsäure + Wasser)

$C_6H_{12}O_6 + 3\,O = COOH . (CHOH)_4 . COOH + H_2O$ (Zuckersäure + Wasser)

$C_6H_{12}O_6 + 6\,O = CHO . CHOH . CH_2OH + 3\,CO_2 + 3\,H_2O$ (Glyzerinaldehyd + Kohlendioxyd + Wasser)

oder

$= CH_2OH . CO . CH_2OH + 3\,CO_2 + 3\,H_2O$ (Dioxyaceton + Kohlendioxyd + Wasser)

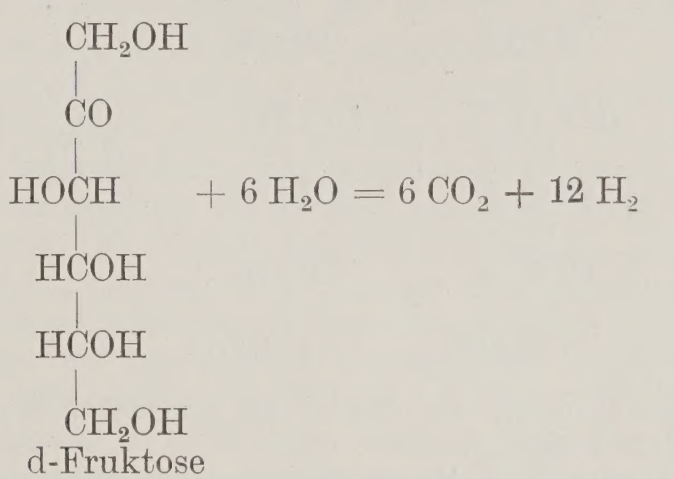
$C_6H_{12}O_6 + 9\,O = 3\,COOH . COOH + 3\,H_2O$ (Oxalsäure + Wasser)

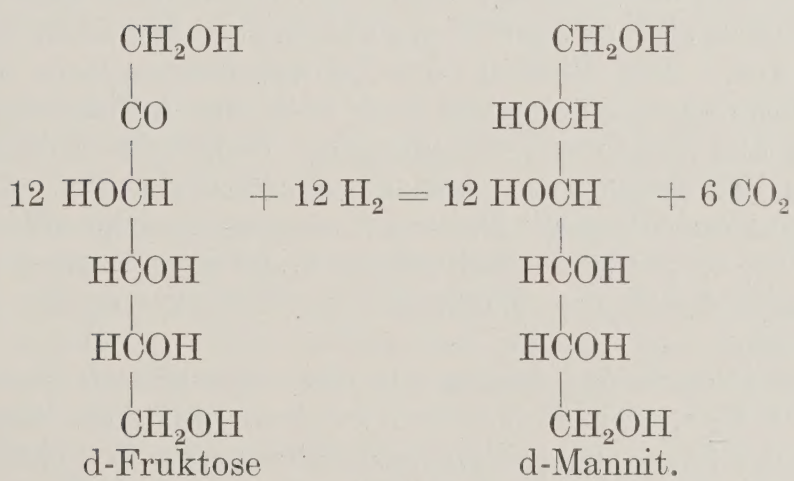
Eine vollständige Oxydation läßt sich unter der Annahme des Eintrittes von 12 Sauerstoffatomen vorstellen, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 12\,O = 6\,CO_2 + 6\,H_2O.$$

Neben Oxydationen spielen Reduktionen im Baustoffwechsel der Bakterienzelle immer beim Aufbau von Fetten und Eiweiß aus Kohlehydraten eine Rolle. Ein Beispiel eines genauer untersuchten Reduktionsvorganges gibt die Mannitbildung aus Fruktose durch den Bacillus manniticus. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird dabei ein Teil der vorhandenen Fruktose zuerst unter Wasseraufnahme in Kohlendioxyd und Wasserstoff gespalten und die restliche Fruktose durch den entstandenen Wasserstoff zu Mannit reduziert. Wir haben uns beide Vorgänge parallel verlaufend vorzustellen. Übrigens geht bei dieser Umsetzung durch die genannte Bakterienart noch eine Reihe von Nebenreaktionen vor sich, die einen Teil der Fruktose zu Essigsäure, Milchsäure, Kohlensäure und Bernsteinsäure spalten.

Die Mannitbildung kann man sich im Sinne folgender Reaktionen vorstellen:





Gleichzeitig unterliegt die Fruktose noch Umsetzungen entsprechend den Gleichungen:

$7\,C_6H_{12}O_6 + 6\,CO_2 = 12\,COOH\,.\,(CH_2)_2\,.\,COOH$ (Bernsteinsäure)

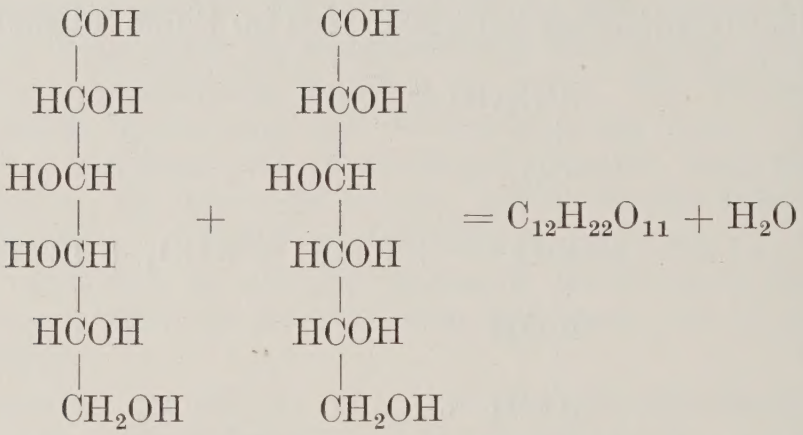
$C_6H_{12}O_6 = 2\,CH_3\,.\,CHOH.\,COOH$ (Milchsäure)

$C_6H_{12}O_6 = 3\,CH_3COOH$ (Essigsäure)

$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,CO_2 + 12\,H_2$ (Kohlendioxyd + Wasserstoff).

Zur Vorbereitung ungelöster und gelöster komplexer Verbindungen für den Stoffaufbau kommen auch hydrolytische Spaltungen, Hydratationen, wesentlich in Frage. Die durchsichtigsten Beispiele dafür geben die Harnstoffbakterien und ihnen nahestehende Mikroben, die bei ihrem Stoffwechsel Carbamid hydrolytisch in Ammoniumkarbonat spalten, ein Vorgang der als „ammoniakalische Gärung" bekannt ist. Auch die meisten Spaltungen der artfremden, in der Nahrung dargereichten Eiweißkörper zwecks weiterer Assimilation der entstandenen Bruchstücke sind Hydratationen.

Beim Aufbau der Leibessubstanz treten reichlich Umwandlungen auf, bei denen Wasser abgespalten wird. Solche Anhydrierungen sind häufig reversible Vorgänge von Hydrolysierungen. Wir haben die enzymatische Spaltung des Milchzuckers in Galaktose und Glukose bereits kennen gelernt. Auch der umgekehrte Vorgang, der Aufbau der Laktose aus Glukose und Galaktose kommt beim Stoffaufbau vor und verläuft etwa entsprechend der Gleichung:



Auch die Bildung der Maltose aus zwei Molekülen Glukose ist ein solcher Vorgang.

Beim Aufbau der Leibessubstanz aus einfacheren Baustücken treten auch Kondensationen und Verkettungen derselben unter Wasserabspaltung auf. Die Bildung der Zellwandbestandteile muß auf derartige Umsetzungen zurückgehen und auch der Aufbau unlöslicher Zellinhaltsstoffe aus löslichen Verbindungen. Gewisse Schleimbildungen aus löslichen Kohlehydraten haben wir ebenfalls als solche Verdichtungsvorgänge aufzufassen. Dabei ist es gleichgültig, ob sie als außen immer wieder verquellende Zellwände angesehen werden oder ihr Zustandekommen durch die Wirkung von Zellsekreten im Nährsubstrat gedeutet wird.

Die Kondensationen führen zu den eigentlichen Synthesen des Körpereiweißes, des Reserveeiweißes und der Reservekohlehydrate und Fette. Diese Synthesen können bei den elementaren Ausgangsstoffen bis hinauf zu vorgebildeten organischen Verbindungen einsetzen und scheinen überhaupt etappenweise vor sich zu gehen, wobei jedenfalls Enzyme eine wesentliche Rolle spielen.

Schon lange kennt man Mikroorganismen, die die Fähigkeit besitzen, ihre gesamte Leibessubstanz bei ausschließlich anorganischer Nahrung zu erhalten, bzw. sich gut zu vermehren. So vermögen die Nitrifikationsbakterien den ganzen Zellhaushalt aus Ammoniumkarbonat zu bestreiten, wobei sie das Kohlendioxyd als Kohlenstoffquelle benutzen

und Ammoniak zu Nitrit oxydieren. Als ein anderes Beispiel eines einfachste Verbindungen zum Aufbau der Zellsubstanz benutzenden Mikroben ist der Thiobacillus denitrificans, der bei Anwesenheit von Schwefelpulver in Kaliumnitrat, Natriumkarbonat und Kalziumkarbonat haltigen Nährlösung bei Abwesenheit des Luftsauerstoffes den Schwefel oxydiert, KNO_3 spaltet und den Kohlenstoff des Kalziumkarbonates zum Aufbau der organischen Kohlenstoffverbindungen ausnützt. Den Vorgang kann man formelmäßig etwa wie folgt ausdrücken:

$$6\,KNO_3 + 5\,S + 2\,CaCO_3 = 3\,K_2SO_4 + 2\,CaSO_4 + 2\,CO_2 + 3\,N_2$$

Es wird dabei also Kohlendioxyd und Stickstoff frei; ersteres dient als Kohlenstoffquelle für die Ernährung.

Die Assimilation von Kohlenoxyd ist bei Bakterien überhaupt weit verbreitet und durch sie wird auch der Kohlenstoff des Methans, nachdem letzteres durch den Bacillus methanicus im Sinne der Gleichung

$$CH_4 + 2\,O_2 = CO_2 + H_2O$$

zu Kohlendioxyd und Wasser oxydiert ist, wieder in den später zu beschreibenden Kreislauf des Kohlenstoffes eingeführt.

Die bisher erwähnte Kohlensäure-Assimilation durch Bakterien vollzieht sich ohne Einwirkung der Lichtenergie. Es wurden aber zahlreiche grün und rot gefärbte Bakterienarten bekannt, denen die Fähigkeit der CO_2-Verarbeitung im Lichte mit Hilfe ihres Farbstoffes zugesprochen worden ist. So findet man in der Literatur Angaben über ein grünes Bacterium chlorinum, das im Sonnenlichte Sauerstoff abspalten und damit sauerstoffliebende Spirillen anlocken soll. Es wurde ein Bacillus viridis, ein Bacterium viride usw. beschrieben, ohne daß es gelungen wäre, den exakten Nachweis einer CO_2-Assimilation unter Sauerstoffabgabe im Lichte zu erbringen. Jedenfalls ist das Vorkommen der CO_2-Verarbeitung durch grüne Bakterien mit Hilfe der Lichtenergie äußerst zweifelhaft und die Existenz chlorophyllführender Bakterien nicht erwiesen.

Auch für die Gruppe der Purpurbakterien, deren rot erscheinender, intrazellulärer Farbstoff aus einem roten Bacteriopurpurin und dem grünen Bacteriochlorin zusammengesetzt ist, ist eine der durch grüne Pflanzen hervorgerufenen ähnliche CO_2-Assimilation im Lichte abzulehnen. Es deckt sich der grüne Farbstoff der Pupurbakterien auch in seinen chemisch-physikalischen Eigenschaften nicht mit denen des Chlorophylls. Wir wissen nur sicher, daß diese Bakterien ohne organische Nahrung nicht leben können, daß aber Licht jedenfalls ihr Fortkommen begünstigt.

Hand in Hand mit der Assimilation und dem Aufbau von Leibessubstanz gehen Zerfallserscheinungen und Spaltungen, die einerseits die eigene Leibessubstanz betreffen, andererseits, wie soeben dargetan, die dargereichte Nahrung. Man kann diese Abbauprodukte in solche scheiden, die als bestimmte innere oder äußere Sekrete für die Zelle wertvoll sind und in solche, die weiterhin unverwertbar als Exkrete von der Zelle ausgeschieden werden. Dabei können natürlich letztere für artfremde Mikroben wieder sehr gut ausnutzbare Verbindungen vorstellen. So erklärt sich ja wenigstens einigermaßen die Abfolge der Bakterien bei allen

mikrobiellen Umsetzungen in der Natur, wie beispielsweise im Ackerboden, im Dünger, im Wasser usw.

Ein nur schwaches Abbild der ungeheuren Fälle von Assimilationsprodukten im Zelleben gibt folgende sehr lückenhafte Zusammenstellung der wichtigsten Gruppen gebildeter Verbindungen:

1. **Eiweißstoffe:**
   - Euproteine { Albumine, Globuline
   - Protamine
   - Glukoproteine (Bakterienmucin)
   - Nukleoproteide
   - Volutin
2. **Fette:**
   - Neutralfette
   - Lezithine
   - Cholesterinfettsäureester
   - Wachsartige Substanzen
3. **Kohlehydrate:** { zelluloseartige Polyosen, zuckerartige Polyosen.

5. Betriebsstoffwechsel der Bakterien.

Da im allgemeinen den Bakterien die Fähigkeit der Ausnützung der Lichtenergie mit Hilfe besonderer Farbstoffe mangelt, sind sie nur auf jene Energien angewiesen, die ihnen in den Nahrungsmitteln zur Verfügung stehen. Die Nährstoffe der Bakterien sind größtenteils kalorisch hochwertige Verbindungen, welche also große Mengen potentieller Energie in chemisch gebundener Form enthalten. Sowohl Oxydationen von Elementen als auch Zersetzungsprozesse organischer und anorganischer Verbindungen liefern den Bakterien die zum Ablauf des Stoffwechsels, also des Lebens, notwendige Energie, welche in der Zelle die entsprechenden Umformungen durchmacht.

Wie schon früher angedeutet, faßt man alle energieliefernden Zersetzungsvorgänge in der Bakterienzelle als Dissimilation zusammen, pflegt ihr aber auch synthetische kraftliefernde Vorgänge zuzurechnen. Zum Unterhalt dieser Vorgänge erzeugt die Zelle besondere Stoffe, Enzyme, die in erster Linie komplexe, außerhalb der Zelle gelöst oder ungelöst befindliche Verbindungen in diejenigen Bausteine zerlegen, die ins Protoplasma diffundieren können und dort wieder in den Eiweißkomplex eingeführt werden. Wir haben in diesem Sinne wirksame Stoffe als Ektoenzyme bereits kennen gelernt. Die Endoenzyme äußern gleiche Wirkungen in der Zelle. Ein großer Teil der bei diesen Spaltungen innerhalb der Zelle frei werdenden Energie kann der Zelle selbst zugute kommen, sofern sie nicht in Form von Wärme an die Umgebung abgegeben wird. Schon aus den wenigen Andeutungen entnimmt man, daß eine strikte Scheidung der Dissimilationsvorgänge nicht möglich ist. Außerdem werden die Zersetzungen noch Stoffe einfacher Natur liefern, die für den betreffenden Organismus als wertlos, wenn nicht schädlich angesehen werden müssen. Gemeint sind hier vor allem die Auswurfsstoffe der Zelle, Abfallprodukte, die sich besonders dadurch auszeichnen, daß sie meist sehr einfache und sehr stabile Verbindungen sind oder rasch in solche übergehen. Für andere Mikroorganismen sind sie demnach mitunter ausgezeichnete Nährstoffe.

Man ist gewohnt, in der Atmung, einem Teilvorgang der Dissimilation, die beste und ertragreichste Energiequelle eines Organismus zu erblicken. Wir verstehen unter Atmung ganz allgemein durch den Organismus unter Aufnahme von Sauerstoff ausgelöste Oxydationszersetzungen, deren Endprodukte Kohlensäure und Wasser sind. Die Zelle verbraucht also Sauerstoff und gibt Kohlensäure und Wasser ab. Diese Oxydation spielt sich unmittelbar im Protoplasma ab, aus dem dabei die genannten Endprodukte abgespalten werden. Diese Begriffsfassung gilt in erster Linie für die Atmung unter Zutritt der Luft. So werden also die aëroben Bakterien atmen können.

Einen verhältnismäßig einfachen Fall von aërober Atmung bieten die autotrophen Bakterien, welche dabei anorganische Stoffe oxydieren. Der Bacillus pantotrophus veratmet Wasserstoff zu Wasser, wobei Energie frei wird, die in Form von Wärme gemessen 69 Kalorien beträgt. Der Vorgang spielt sich im Sinne der Gleichung: $H_2 + 0 = H_2O$ (+ 69 Kal.) ab.

Der Bacillus oligocarbophilus oxydiert Kohlenoxyd:

$$CO + O = CO_2 \ (+ 74 \text{ Kal.})$$

Die Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Wasser und Schwefel, die wir bei Beggiatoa alba beobachten können, liefert ebenfalls Energie: $H_2S + O = H_2O + S$ (+ 62 Kal.).

Besonders hohe Energiewerte in Form von Wärme liefert die Veratmung des Methans durch den Bacillus methanicus:

$$CH_4 + 2\,O_2 = CO_2 + 2\,H_2O \ (+ 220 \text{ Kal.}).$$

Im allgemeinen viel höhere Energiebeträge, als Wärme gemessen, bietet die Veratmung organischer Substanzen, die entweder vollständig sein kann oder aber nur unvollständig. Die vollständige Verbrennung der organischen Kohlenstoff-, Wasserstoff-, Sauerstoff-Verbindungen liefert als Endprodukt Wasser und Kohlendioxyd. Von den Bakterien werden meist in dieser Art Kohlehydrate, Alkohole, Fette und Fettsäuren veratmet.

Ein einfaches Beispiel dafür ist die Verbrennung der Dextrose

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 = 6\,CO_2 + 6\,H_2O \ (+ 674 \text{ Kal.}).$$

Auch der Äthylalkohol wird von gewissen Bakterien in dieser Weise veratmet, wobei der Energiegewinn ein geringerer ist.

$$C_2H_5OH + 3\,O_2 = 2\,CO_2 + 3\,H_2O \ (+ 326 \text{ Kal.}).$$

Aber nicht nur die bisher genannten stickstofffreien Verbindungen bilden ein sehr brauchbares Atmungsmaterial, sondern auch die Eiweißkörper und ihre Abkömmlinge. In diesen Fällen erhält man als Endprodukte aber nicht mehr CO_2 und H_2O allein, sondern auch noch Ammoniak.

Es spielt aber auch bei zahlreichen Mikroorganismen die unvollständige Veratmung von organischen Verbindungen eine wichtige Rolle. Ein solcher Vorgang ist z. B. die Oxydation der Dextrose unter Bildung von Essigsäure oder von Glyzerin, wie es der Bacillus subtilis zeigt. Auch die Oxydation von Traubenzucker zu Oxalsäure entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 9\,O = 3\,C_2H_2O_4 + 3\,H_2O \ (+ 493 \text{ Kal.}),$$

wie sie bei einigen Essigbakterien auftritt, ist eine unvollständige Veratmung.

Man hat die durch Atmung gewonnenen Energiemengen als Wärme in Kalorien gemessen, wie es auch oben geschehen ist. Die bisher zur Atmung gerechneten Reaktionen sind samt und sonders exotherm, liefern also Wärme, deren Menge wir in Kalorien berechnet haben und auch so messen können. Diese Wärme geht nun sofort an die Umgebung über und ist somit als Energie für die Zelle dauernd verloren. Daß Wärme aber tatsächlich bei solchen Umsetzungen in großer Menge frei wird, sehen wir an der Erwärmung, die bei allen Gärungen und Atmungen unmittelbar meßbar auftritt.

Wenn wir in der Atmung eine Energiequelle für den Zellbetrieb sehen wollen, dürfen wir den Energiegewinn nicht unmittelbar auf die bei der Oxydation frei werdende Wärme beziehen. Indirekt kann sie allerdings ein energieliefernder Prozeß sein, indem durch die Oxydation Verbindungen entstehen, die mehr osmotische Energie besitzen oder in bezug auf ihre elektrische Ladung größere Potentialdifferenzen auslösen und so Energieformen beistellen, die in Bewegung und andere Arbeitsleistungen umgesetzt werden. Solche können wir aber von der bei der Atmung frei gewordenen Wärme nicht mehr annehmen. Im übrigen stehen ja der Zelle noch eine Reihe anderer Energiequellen zur Verfügung, die sehr beträchtlich sind. Da sind vor allem die Quellung und die Oberflächenspannung zu nennen. Wir sind deshalb berechtigt, die Atmung nur im besten Falle für einen kleinen Energiegewinn verantwortlich zu machen und die Hauptmenge derselben anderen Energiequellen zuzuschreiben.

Wesentlich anders verläuft die Atmung dann, wenn der Luft-Sauerstoff fehlt. Wir haben schon zahlreiche Bakterien kennen gelernt, die auch ohne irgendeine Spur freien Sauerstoffes zu leben vermögen. In diesem Falle geht eine Reihe von inneren Oxydationen im Molekül vonstatten, die naturgemäß von Reduktionen begleitet sein müssen, da von außen her kein freier Sauerstoff zugeführt wird. Man bezeichnet diese Art von Atmung ganz allgemein als „intromolekulare Atmung“ (Pfeffer). Es werden dabei Kohlensäure und Wasser ebenfalls von Molekülen der Leibessubstanz selbst abgespalten, während der dazu notwendige Sauerstoff anderen Verbindungen oder dem Molekül der veratmeten Verbindung entnommen wird. Im letzteren Falle finden also Umsetzungen von Sauerstoffatomen im Molekül statt. Daneben können noch andere Vorgänge, wie die alkoholische Gärung und die Buttersäuregärung usw., auftreten, die neben dem Hauptgärprodukt noch andere Stoffe liefern, darunter auch Kohlensäure. Man ist dementsprechend nicht berechtigt, in der inneren Atmung eine alkoholische Gärung zu erblicken; es handelt sich vielmehr um Prozesse, die in vielen Fällen nebeneinander verlaufen. Die Sauerstoffübertragung bei der Atmung geschieht höchstwahrscheinlich mittels Oxydasen, also Enzymen, deren Wirkungsweise wir schon früher kennen lernten.

Anhang zur Bakterienphysiologie.

Wir haben alle jene Vorgänge kurz erörtert, die für den Lebensunterhalt und die Vermehrung der Mikroorganismen von Bedeutung sind. Wenn wir an der Hand unserer bisherigen Auseinandersetzungen das Leben einer Bakterie kurz verfolgen und dazu als Beispiel Nitrifikationsmikroben wählen wollen, die nur mit den einfachsten Verbindungen als Nahrung vorlieb nehmen, so kommen wir zu folgendem Ergebnis:

Die Ammoniak zu Nitrat oxydierenden Bakterien vermehren sich in sehr einfach zusammengesetzten Nährsubstraten, wie beispielsweise in der von Winogradsky angegebenen Nährlösung, bestehend aus

Ammonsulfat	2	g
Kaliumphosphat	1	g
Magnesiumsulfat	0,5	g
Chlornatrium	2	g
Eisenoxydul	0,4	g
dest. Wasser	1000	cc

Basisch kohlensaure Magnesia im Überschuß.

Der Nährboden ist frei von organischen Verbindungen, obwohl er alle Elementarbestandteile, die für die Zelle wesentlich sind, enthält. Mit diesen Verbindungen unter Hinzutritt der Luft leben die genannten Bakterien. Der Lebensprozeß wird wohl so verlaufen, daß aus diesen Verbindungen die Leibessubstanz aufgebaut und die dazu erforderliche Energie gewonnen wird. Wenn wir die Aufbau- und Abbauprozesse näher betrachten, so finden wir, daß die Nitritbakterien ihren Kohlenstoffbedarf aus freier und halbgebundener Kohlensäure decken, ihren Stickstoffbedarf aber aus Ammonstickstoff, da nach eingehenden Untersuchungen Godlewskis in der Luft etwa vorhandene organische Verbindungen für diese Prozesse nicht in Frage kommen. Die übrigen Zellelemente stehen ohnehin in der Nährlösung zur Verfügung und werden den oben zusammengestellten Verbindungen entnommen. Daneben wird noch ein sehr ausgiebiger Oxydationsprozeß unterhalten, der große Mengen Ammonstickstoff in Nitrit überführt. Derselbe ist gegenüber der vorhandenen Anzahl Zellen sehr groß, denn das Verhältnis zwischen dem in Nitrit oxydierten Stickstoff und dem in die Leibessubstanz übergeführten Kohlenstoff — (N : C) — ist im Mittel durch die Zahl 35,4 gegeben. Das heißt nichts anderes, als daß einem Teile assimilierten Kohlenstoffes 35,4 Teile oxydierten Stickstoffes entsprechen, was, in salpetrige Säure umgerechnet, 96 Teile derselben ausmacht. Das Wachstum und die Vermehrung dieser Organismen ist auch außerordentlich langsam gegenüber der Oxydationsleistung derselben. Die Oxydation des Ammonstickstoffes zu salpetriger Säure ist ein exothermischer Prozeß, bei dem Wärme als Energie frei wird. Da wir uns den ganzen Prozeß als intrazellulär zu denken haben, so wird diese Wärme in der Zelle frei. Trotzdem ist sie der Zelle verloren, wenn sie an die Außenwelt abgegeben wird, was aber eintreten muß, sobald sie überhaupt frei wird. Damit daraus für die Zelle ein Energiegewinn zustande kommt, müßte dieser Oxydationsprozeß die Energie bereits in anderer Form liefern oder mindestens einen Teil derselben. Hier versagen aber unsere Kenntnisse. Wir wissen nur, daß die Zelle

Energie braucht, sie auch gewinnt, da sie lebt und Arbeit leistet; woher sie aber in letzter Linie gewonnen wird und in welcher Form, darüber sind wir nicht unterrichtet. Wir können nach reiflicher Überlegung aller Atmungserscheinungen nur sicher erklären, daß dadurch ein unmittelbarer Energiegewinn nicht resultieren kann, wenn der Oxydationsprozeß ausschließlich freie Wärme liefert.

Bei den viel anspruchsvolleren Fäulnisbakterien ist der ganze Zellhaushalt und die Vermehrung weitaus komplizierter, da die Kohlen- und Stickstofflieferanten hier organische Verbindungen mehr oder minder komplizierter Natur sind. Im allgemeinen werden die Assimilationsvorgänge und auch die Dissimilation der gleichen Art wie früher sein, wenn auch die Ausgangsmaterialien andere sind. Um hier die Verhältnisse beurteilen zu können, müssen wir wieder jene Vorgänge, die den Zellaufbau und den Energiegewinn besorgen, von derjenigen trennen, die nebenher mitverlaufen und kolossale Umsetzungen des umgebenden Nährsubstrates herbeiführen. Auch hier werden ohne Nutzen für die Zelle riesige Stoffmengen durch entsprechende Enzyme zerlegt und dabei Wärme freigemacht, ohne daß dabei irgendein Energiegewinn für dieselbe entsteht. Außerdem wird für die entstehenden Abbauprodukte nur eine minimale Menge als Zellnahrung dienen, da die Zellvermehrung mit der Menge aufgespaltener Substanz in keinem Verhältnisse steht. Zu ähnlichen allgemeinen Ergebnissen gelangen wir bei der näheren Betrachtung aller durch Kleinlebewesen bewirkten Umsetzungen und der Ernährungserscheinungen derselben selbst. Einen weitaus besseren Einblick in die Ernährungsphysiologie liefert uns eigentlich die Selbstverbrennung der Zellen, die nach dem Tode derselben der Autolyse das Feld räumt.

Die Selbstverbrennung der Zelle tritt dann ein, wenn luftliebende Mikroorganismen plötzlich in eine sauerstofffreie Atmosphäre und in eine nährstofflose Lösung gelangen. Dann setzt immer eine Zeitlang die intramolekulare Atmung ein, wobei es zur oxydativen Zersetzungen der eigenen Leibessubstanz unter Kohlensäure- und Wasserabgabe kommt. Solange sich in der Zelle Reservestoffe gespeichert finden, wird der Stoffwechsel normal oder wenigstens annähernd normal vor sich gehen. Sobald diese aber assimiliert und veratmet sind, setzt das Hungerstadium ein, das in der allerkürzesten Zeit zu einem starken Defizit an Plasmasubstanz führt. Assimilation und Dissimilation verlaufen immer träger, und die Atmung steht schließlich still, was rasch zum Tode führt. Die Enzyme sind nach dem Tode unabhängig von der Zelle noch wirksam und bauen die restlichen Protein- und Nukleinverbindungen zu den schon früher genannten einfachen Spaltungsprodukten ab. Wir haben dann das Bild der Autolyse oder Selbstverdauung der Zelle vor uns.

Ganz eigenartig muß der Stoffwechsel der ruhenden Spore sein, wenn in ihr ein solcher überhaupt besteht. Dieselbe lebt zwar oder besitzt wenigstens die Fähigkeit, auf äußere Einflüsse hin sofort aufzuleben, was daraus hervorgeht, daß sie nach jahrelanger Ruhe in geeignete äußere Bedingungen gebracht, sofort keimt. Während der Ruhepause muß der Gesamtstoffwechsel der Spore auf ein äußerstes Minimum herabgedrückt sein, da schon durch den geringen Wassergehalt derselben die gesamten Reaktionen außerordentlich verlangsamt, wenn nicht teilweise gänzlich aufgehoben werden. Dies gilt noch vielmehr für den Fall, wenn

man die Sporen in einen Exsikkator bringt und maximal austrocknet. Es ist nicht anzunehmen, daß es gelingt, das Wasser aus denselben gänzlich zu entfernen. Dies dürfte schon durch die starke und eigenartige Zellwand derselben verhindert werden. Eine Vorstellung von einem vorübergehenden Stillestehen jedweder Lebenstätigkeit, also einer Lebenspause, können wir uns kaum machen, obwohl daran schließlich auch zu denken ist. Danach befindet sich die reife, ruhende Spore in einer Art von Spannungszustand, der nur der auslösenden Wirkung von außen her bedarf, um den Stoffwechsel, also die Keimung, in Gang zu bringen. Man könnte sich dies vielleicht so denken, daß die durch den Wassermangel oder durch andere uns nicht bekannte innere Ursachen nicht mehr sehr labilen Plasmaverbindungen längere Zeit in diesem Zustand ohne Zerfallserscheinungen und Arbeitsleistungen verharren können, um dann wieder bei Wasseraufnahme und Energiezufuhr von außen her sofort die für das Leben unerläßlichen Umsetzungen aufzunehmen. Während dieser Lebenspause wird also das Plasma in einem gewissen Lebenszustande durch äußere oder vielleicht auch innere Ursachen vorübergehend gehalten, ohne daß es in demselben zu echten Gleichgewichten käme. Vielleicht paßt hier der Vergleich mit einem schwingenden Pendel, das durch ein Hindernis außerhalb der Ruhelage festgehalten, gleichsam gesperrt ist. Sobald die Sperrung durch äußere Kraft entfernt wird, schwingt es weiter. Indem wir den Sporen Wasser zuführen, erhöhen wir in ihnen durch Verdünnung der löslichen Produkte die Reaktionsfähigkeit, erzeugen aber gleichzeitig Energie, da sehr bedeutende Quellungen auftreten, die von großen Druckwirkungen begleitet sind. Dann setzt auch schon der Keimungsprozeß ein, der selbst von der Anwesenheit von Nährstoffen ziemlich unabhängig ist.

Erst das eben gekeimte Keimstäbchen muß letztere in genügender Menge und passender Form zur Verfügung haben. Auch der Sauerstoffgehalt der Luft spielt dabei eine untergeordnete Rolle. Haben wir doch früher gesehen, daß die Sporenkeimung in dieser Hinsicht ein sehr wenig anspruchsvoller Vorgang ist.

Beim Einfrieren in sehr tiefen Temperaturen, das von vegetativen Bakterienzellen im allgemeinen sehr gut überdauert wird, finden wir auch ein vorübergehendes Einstellen aller Lebensfunktionen, die nach dem Wiederauftauen sofort wieder einsetzen.

Nachdem wir in groben Umrissen die Grundlagen der Ernährung der Bakterien und ihre durch die Enzyme herbeigeführten Umsetzungen, Zerlegungen und Gärungen der verschiedensten Stoffe kennen gelernt haben, können wir uns auch ein Urteil über die Wirkungsweise derselben im Verein mit den anderen höheren Organismen und Mikroorganismen in der freien Natur bilden. Sowohl der Stickstoff als auch der Kohlenstoff und alle anderen für die Organismen unbedingt notwendigen Elemente befinden sich in einem ständigen Kreislauf, der mit dem Vergehen und Werden der lebenden Materie aufs innigste zusammenhängt. Es wird uns genügen, wenn wir hier in aller Kürze unter Weglassung der weniger wichtigen Nebenvorgänge den Kreislauf des Stickstoffes und der Kohlensäure betrachten.

A. Kreislauf des Stickstoffes.

Neben elementarem Stickstoff findet sich in der Natur eine große Anzahl von stickstoffhältigen Verbindungen, aus denen mittelbar oder unmittelbar der Bedarf der verschiedenen Organismen an diesem zum Leben unbedingt notwendigen Element gedeckt wird. Der Pflanze stehen in erster Linie der elementare Stickstoff, der Ammonstickstoff und auch der Salpeterstickstoff zur Verfügung; von diesen Stickstoffquellen wird unmittelbar nur der Ammon- und der Nitrat- oder Salpeterstickstoff assimiliert; außerdem kann die höhere Pflanze einschließlich einiger Pilze auch den Nitritstickstoff verwerten, während der elementare Stickstoff nur von gewissen Mikroorganismen aufgenommen und zu Leibessubstanz verarbeitet werden kann. Es sind in erster Linie zwei Kategorien von Bakterienarten, die Stickstoff binden. Die eine umfaßt eine Reihe frei im Boden lebender Bakterien, die durch ein hohes Stickstoffbindungsvermögen ausgezeichnet sind, wie Chlostridien (Amylobakterarten) und Azotobakter. Die zweite Gruppe vereint Bakterienarten, die erst in die Wurzel einer Pflanze eingewandert, dort freien Stickstoff assimilieren und diesen dann der betreffenden Pflanze teilweise in assimilierbarer Form zuführen, teilweise aber als Leibessubstanz festlegen. Wie wir später noch genauer erfahren werden, verursachen diese Bakterien speziell an den Wurzeln der Leguminosen Knöllchen, weshalb man sie auch als Knöllchenbakterien bezeichnet. Auch Fadenpilze in der Wurzel anderer Gewächse, Erle usw., assimilieren freien Stickstoff, was hier nur nebenbei erwähnt sei. In der freien Natur setzt nun die Fäulnis wieder große Stickstoffmengen in Freiheit; außerdem dient die Pflanze den Tieren als Nahrung, die einen großen Teil des aufgenommenen und in Leibessubstanz umgewandelten Stickstoffes wieder in Form von Kot und Harn zeitlebens abgeben. Tiere dienen anderen Tieren wieder zur Nahrung, und so pflanzt sich der Kreislauf in einer Kette fort. Der im Tierkörper während des Lebens im Eiweiß und anderen Verbindungen befindliche Stickstoff wird nach dem Tode auch durch die Fäulnis teils in einfache Ammonverbindungen u. dgl. übergeführt oder als elementarer Stickstoff (allerdings in geringer Menge) in Freiheit gesetzt. Erstere dienen wieder unmittelbar Pflanzen zur Nahrung oder werden weiter durch Bakterien in andere Stickstoffverbindungen umgewandelt, die ebenfalls der Pflanze als Stickstoffquelle zur Verfügung stehen. So können die Nitritbakterien den Ammonstickstoff zu Nitritstickstoff oxydieren, den die Nitratbakterien weiter zu Nitratstickstoff oxydieren. Die im Kot und Harn der Tiere abgegebenen Stickstoffverbindungen unterliegen ebenfalls der Fäulnis und Gärung, wobei wieder eine Reihe einfacher Stickstoffverbindungen entsteht, die die Pflanze assimilieren kann. So bildet sich bei der Harngärung der Ammoniakstickstoff, der einerseits Pflanzen unmittelbar ernähren kann, andererseits von den oben genannten Salpeterbakterien in Nitrit- und Nitratstickstoff übergeführt wird.

Wenn wir uns eine Vorstellung von dem Stickstoffkreislauf machen wollen, müssen wir sagen, daß sich der Stickstoff in verschiedenen Verbindungen ständig durch die lebende Substanz hindurchbewegt, was ja beim Tier ganz besonders augenfällig ist. Unter Außerachtlassen von zahlreichen Nebenvorgängen und Einzelerscheinungen ist in der folgenden

Figur 67 der Versuch unternommen worden, den Gang des Stickstoffkreislaufes durch Linien im wesentlichen darzustellen. Dabei betreffen die

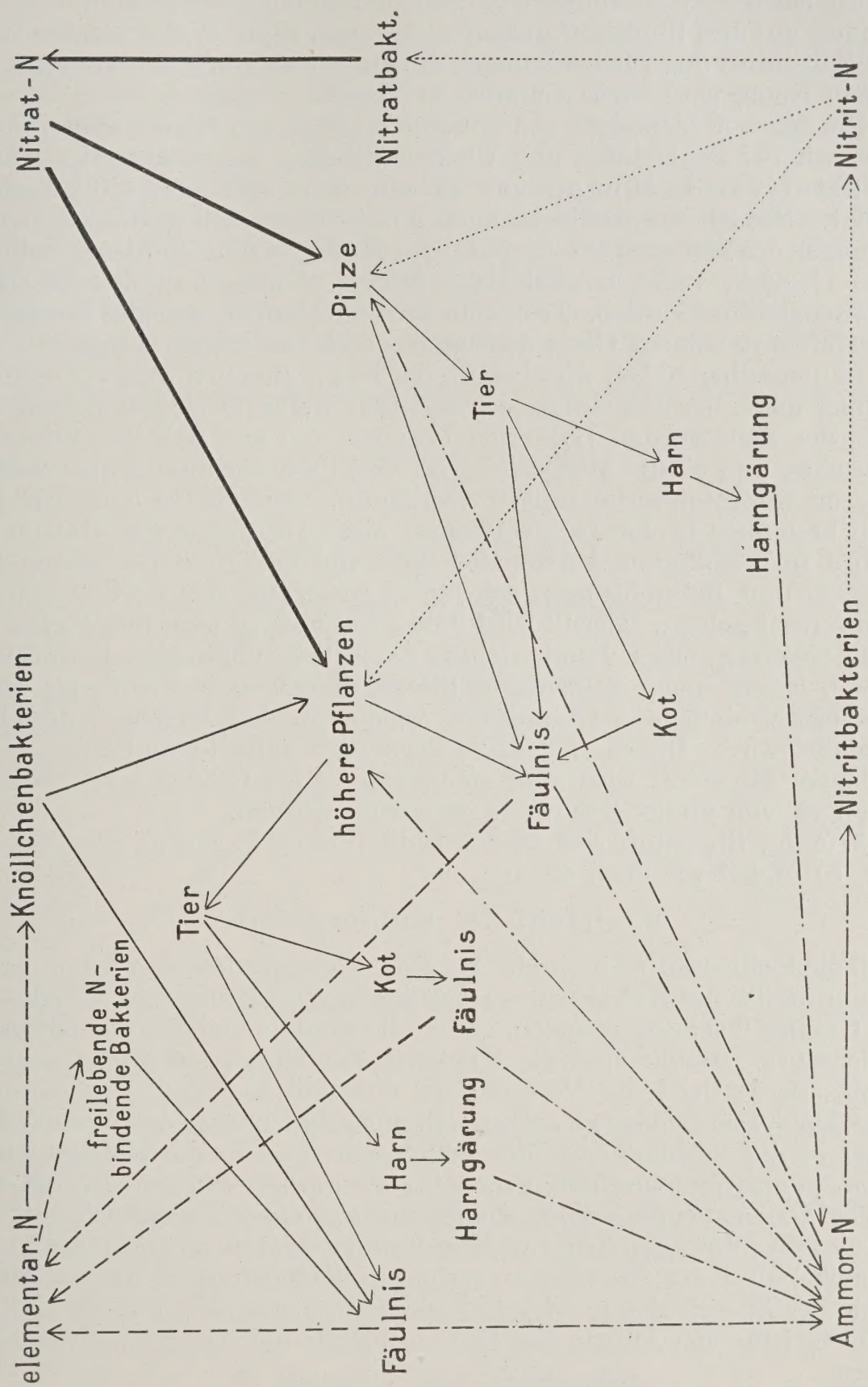


Fig. 67.

gestrichelten Linien den elementaren Stickstoff, die strichpunktierten den Ammonstickstoff, die punktierten den Nitritstickstoff und endlich die dick, voll ausgezogenen den Nitratstickstoff, während die Zwischen-

vorgänge durch voll ausgezogene, dünne Linien angedeutet sind. Wir entnehmen sofort, daß die höheren Pflanzen alle vier an den Ecken angeschriebenen Stickstoffquellen gebrauchen können, während die höheren Pilze nur auf drei Stickstoffquellen angewiesen sind. Wenn wir den Gang des Stickstoffes den Pfeilrichtungen entsprechend verfolgen, kommen wir an kein Ende, wo immer wir auch anfangen.

Bei unserer bisherigen Auseinandersetzung des Stickstoffkreislaufes haben wir der Einfachheit und Übersichtlichkeit wegen als organische Stickstoffverbindungen nur Eiweiß, Kot und Harnstoff berücksichtigt. Natürlich unterliegen auch alle anderen stickstoffhaltigen Verbindungen des Tier- und Pflanzenkörpers der Zersetzung und Umwandlung, wobei ebenfalls recht beträchtliche Stickstoffmengen in den Kreislauf wieder eingeführt werden. Trotzdem wird die Hauptmenge des kreisenden Stickstoffes in seinem Gang dem oben gegebenen Schema folgen.

In demselben haben wir einen in der Natur ziemlich weit verbreiteten Vorgang nicht berücksichtigt, der ebenfalls freien Stickstoff liefert. Im Laufe der Zeit wurden Bakterien bekannt, die aus Salpeter Stickstoff freimachen und so die Menge der von den Pflanzen unmittelbar assimilierbaren Stickstoffverbindungen verringern. Man hatte eine Zeit hindurch besonders in der Landwirtschaft diesem Prozesse der Denitrifikation im gedüngten Ackerboden eine viel zu große Bedeutung beigemessen und Befürchtungen schwerster Natur für den Fortbestand der Pflanzenwelt gehegt. Gewiß wird dieser Vorgang in manchen Fällen den Stickstoffertrag eines Landstriches wesentlich ungünstig beeinflussen können, indem mehr elementarer Stickstoff entbunden wird, als durch die stickstoffbindenden Organismen wieder in den Kreislauf desselben eingeführt wird. Dieses vielleicht gelegentlich auftretende Defizit an gebundenem Stickstoff wird aber niemals derartige Größen erreichen, daß Störungen von großer Tragweite entstehen würden.

Wie der Stickstoff sich in der Natur immer in einem Kreislauf bewegt, so finden wir auch einen

Kreislauf des Kohlenstoffes

durch die Kohlensäure hindurch. Bei allen Lebensprozessen wird durch die Atmung beständig Kohlensäure in größeren oder geringeren Mengen aus dem Organismus ausgeschieden. Auch die Fäulnis und Gärung entbindet Kohlensäure. Damit sind die Kohlensäurequellen noch lange nicht erschöpft, da ja bei jeder Verbrennung ebenfalls Kohlendioxyd entsteht. Diese Kohlensäuremengen gehen nun über die höhere Pflanze hinüber wieder in die Verbindungen des Zellplasmas und in die Kohlenhydrate hinein, wenn wir davon absehen, daß auch gewisse Bakterien (z. B. Salpeterbakterien) befähigt sind, Kohlensäure zu assimilieren. Die grünen Land- und Wasserpflanzen, die braunen, roten und grünen Algen des süßen und des Seewassers vermögen Kohlendioxyd unter Zuhilfenahme der Energie des Lichtes zu assimilieren, also daraus ihren Kohlenstoffbedarf für den Aufbau der Leibessubstanz und der Kohlehydrate zu decken.

Die in der Pflanze gebildeten organischen Kohlenstoffverbindungen sind die einzigen Kohlenstoffquellen für die Tiere, letztere selbst samt ihren Ausscheidungen und die Pflanze decken wieder den Kohlenstoffbedarf der höheren und niederen Pilze und Bakterien, wenn wir

von einzelnen Ausnahmen und Nebenvorgängen absehen wollen, die das Wesen der Sache nicht ändern.

Alle Organismen geben bei der Atmung, wie wir bereits hörten, Kohlendioxyd ab; die Gärungs- und Fäulnisvorgänge zerspalten und zertrümmern die Kohlenhydrate und Eiweißstoffe des Tieres und der Pflanzen, wobei neben anderen Produkten immer auch Kohlensäure frei wird. Die Gesamtkohlensäuremenge, die durch die genannten Prozesse gebildet wird, steht wieder der gefärbten Pflanze und durch sie hindurch dem Tiere als Kohlenstoffnahrung zur Verfügung. Damit haben wir auch schon den Gang des Kohlensäurekreislaufes in der Natur erfaßt, und von diesen Gesichtspunkten aus ist auch die schematische Zeichnung dieses Vorganges in der Figur 68 angefertigt worden.

Die Atmungskohlensäure ist durch gestrichelte Linien angedeutet, die Gärungs- und Fäulniskohlensäure durch strichpunktierte Li-

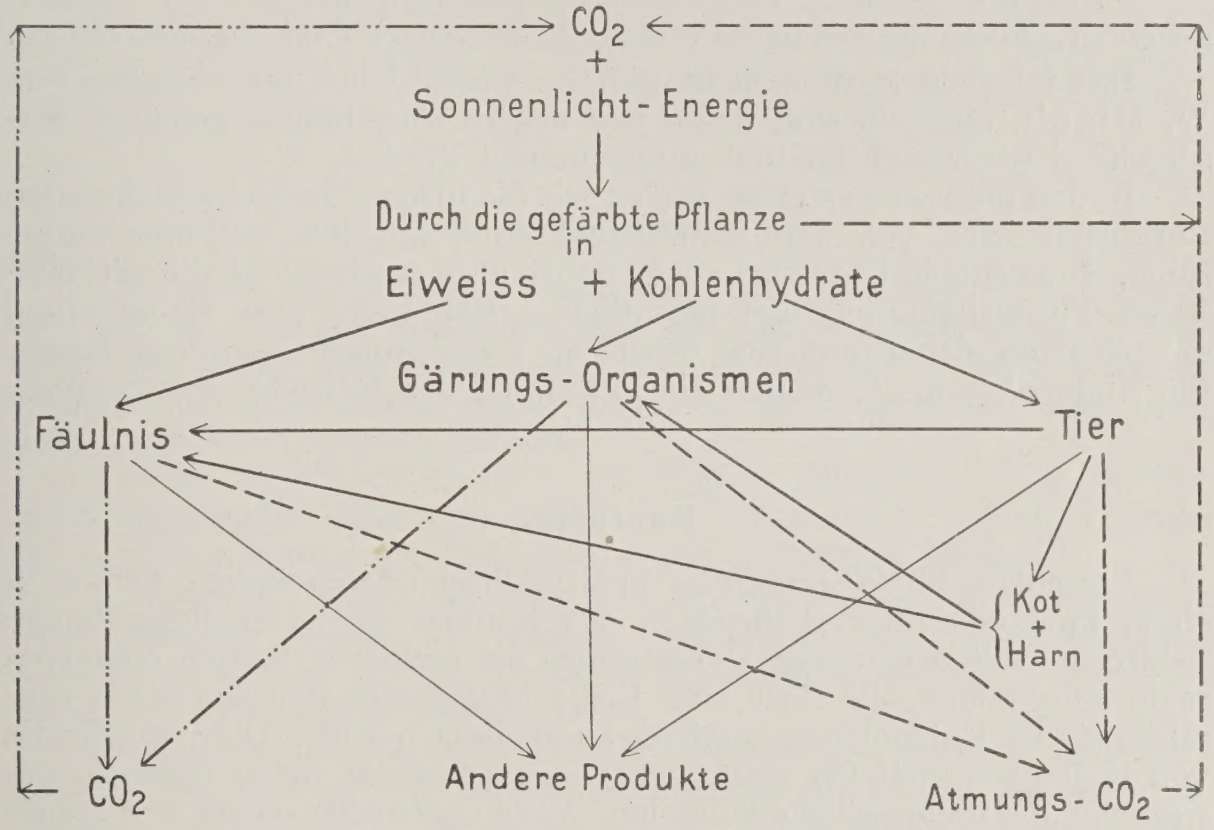


Fig. 68.

nien. Die Pfeilrichtung gibt den Gang des Kreislaufes an. Auch hier kehren wir auf allen Wegen in der Pfeilrichtung wieder zurück zum freien Kohlendioxyd, gehen wir aus von wo immer. Wir müssen nur von den als „andere Produkte" angeschriebenen Stoffen absehen, die zwar auch bei ihrer Zersetzung Kohlensäure liefern, aber der Einfachheit wegen nicht weiter berücksichtigt wurden.

6. System der Bakterien.

Die Aufstellung eines in jeder Hinsicht einwandfreien Bakteriensystems hat von jeher die größten Schwierigkeiten bereitet. Die streng immer sich einstellenden artcharakteristischen Formmerkmale sind ge-

rade bei den Bakterien verhältnismäßig wenig different. Man ist daher gezwungen, auch zur Benutzung und Heranziehung von physiologischen Merkmalen zu schreiten, was jedenfalls eine Auseinanderhaltung der verschiedenen, morphologisch nicht mehr scharf zu trenneden Arten gestattet. So pflegt man bei der Aufstellung eines Bakteriensystems die morphologischen Eigentümlichkeiten in erster Linie zur Gruppierung der Spaltpilze zu benutzen. In den verschiedenen Bakteriensystemen kommen die verwandtschaftlichen Beziehungen der Arten und Gruppen zueinander auch nicht zum Ausdrucke, noch weniger die Verwandtschaft der Bakterien mit der übrigen Organismenwelt. O. Jensen hat den Versuch gemacht, ohne jede Rücksichtnahme auf morphologische Tatsachen und allein auf Grund physiologischer Merkmale und Eigenschaften ein natürliches System der Bakterien zu schaffen. Ein besonderer Erfolg erscheint damit aber kaum erreicht.

So sind alle bisher versuchten Bakteriensysteme nur als vorübergehender, aber notwendiger wissenschaftlicher Behelf zu betrachten.

Das folgende System lehnt sich im wesentlichen an dasjenige von W. Migula an. Es sind dabei nur neuere Forschungsergebnisse entsprechend berücksichtigt und aufgenommen worden.

In den meisten Systemen finden wir die nicht Schwefel speichernden Purpurbakterien von den Schwefelbakterien nur lose getrennt aufgeführt. Die neueren Untersuchungen haben aber ergeben, daß die schwefelfreien Purpurbakterien den eigentlichen Bakterien, also Eubakterien, am nächsten stehen und sich denselben ungezwungen einordnen lassen. Sie sind daher im folgenden als 5. Familie der Eubacteria aufgeführt.

Bacteria.

Einzellige, phykochromfreie Spaltpflanzen, deren Zellen sich nach einer, zwei oder drei Richtungen des Raumes durch Spaltung teilen Zahlreiche Arten erzeugen Dauerformen als endogene Sporen oder sporoide Körperchen, die über eine Reihe bestimmter morphologisch charakterisierter Entwicklungszustände ausgebildet werden. Die Vermehrung von in Fadenverbänden wachsenden und seßhaften Arten besorgen bewegliche und unbewegliche Konidien. Viele Gattungen zeigen eine Eigenbeweglichkeit, die in der Regel durch Geißeln hervorgerufen wird. Nur wenige Gattungen sind ohne Geißeln zu Kriech- oder Pendelbewegungen befähigt. Echte Verzweigungen und auch myceale Wuchsverbände kommen vor.

I. Ordnung: **Eubacteria.**

Die Zellen sind ohne Zentralkörper und führen keine Schwefeleinschlüsse. In der Regel sind sie farblos, nur selten schwach gefärbt oder enthalten Bacteriopurpurin und Bacteriochlorin.

1. Familie: **Coccaceae** (Zopf) Mig.

Die Zellen sind im freien oder ruhenden Zustand kugelig, während des Teilungsprozesses häufig elliptisch, stets ungefärbt.

1. Gattung: Streptococcus Billroth. Die Zellen teilen sich immer nur nach einer Richtung des Raumes, wodurch beim Haftenbleiben der Tochterzellen kettenartige oder rosenkranzförmige Wuchsverbände zustandekommen. Die Zellen sind unbeweglich.

2. Gattung: Micrococcus (Hall.) Cohn. Die stets unbeweglichen Zellen teilen sich in zwei aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes, wodurch beim Verkleben der Teilungsprodukte merismopedien- oder täfelchenartige Zellzusammenlagerungen entstehen.

3. Gattung: Sarcina Goods. Die Zellen besitzen keine Bewegungsorgane und teilen sich in drei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen des Raumes. Dementsprechend entstehen durch Zusammenlagerung der Teilungsprodukte warenballenartige, sehr regelmäßige Wuchsverbände.

4. Gattung: Planococcus n. g. Die Zellen teilen sich nach zwei Richtungen des Raumes wie bei Micrococcus, sind aber begeißelt.

5. Gattung: Planosarcina n. g. Die Teilung der Zellen erfolgt wie bei der Gattung Sarcina, also nach drei aufeinander senkrechten Richtungen des Raumes. Die Zellen sind eigenbeweglich.

2. Familie: **Bacteriaceae.**

Die Zellen besitzen eine Längsachse, sind zylindrisch mit verschieden gestalteten, aber gleichwertigen Zellenden, meist gerade gestreckt oder höchstens in der Ebene gebogen. Die Teilung erfolgt nach vorausgegangener Längsstreckung immer senkrecht zur Längsachse. Die Zellen sind meist farblos, selten gefärbt.

1. Gattung: Bacterium. Die Zellen besitzen in keinem Entwicklungszustand Geißeln und sind stets unbeweglich. Häufig erzeugen sie endogene Sporen als Dauerformen zur Erhaltung der Art.

2. Gattung: Bacillus. Die Zellen sind als Oidien mit einer größeren oder kleineren Anzahl von Geißeln ausgestattet, also beweglich. Die Geißeln sind über die Zelloberfläche gleichmäßig verteilt. Bei vielen Arten treten endogene Sporen auf.

3. Gattung: Pseudomonas. Die Zellen tragen als Oidien an einem Zellpole ein Büschel von Geißeln, bestehend aus zahlreichen oder nur wenigen Geißelfäden. Nur selten werden endogene Sporen ausgebildet.

3. Familie: **Spirillaceae.**

Die Zellen sind schraubig gekrümmt oder stellen Teile eines Schraubenumganges vor. Die Teilung erfolgt nach einer Längsstreckung senkrecht zur Windungsrichtung.

1. Gattung: Spirosoma n. g. Die Zellen sind ohne Bewegungsorgane.

2. Gattung: Microspira. Die Zellen tragen ein bis drei wellig gekrümmte Geißeln an einem Pole.

3. Gattung: Spirillum. Die Zellen entsprechen einem Teile eines Schraubenumganges bis zu mehreren Umgängen und besitzen an einem Zellpol ein Büschel von meist sehr zahlreichen Geißeln. Endosporenbildung kommt nur ausnahmsweise vor.

4. Familie: **Chlamydobacteriaceae.**

Die zylindrischen Zellen sind durch mehr oder minder dicke, gemeinsame Scheiden zu fädigen Wuchsverbänden vereinigt. Die Verbreitung der Art wird durch bewegliche oder unbewegliche Konidien besorgt. Diese gehen entweder unmittelbar aus den freiwerdenden Zellen hervor oder werden aus ihnen nach bestimmten vorausgegangenen Teilungen gebildet. Ohne Ruhestadium bilden sich aus den Konidien durch Spaltungsvermehrung neue Zellfäden. Eine endogene Sporenbildung fehlt durchwegs.

1. Gattung: Chlamydothrix n. g. Die zylindrischen Zellen sind unbeweglich und zu unverzweigten Fäden vereinigt, die keinen Unterschied zwischen Basis und Spitze aufweisen. Die die Wuchsverbände umschließenden Scheiden sind dünn oder dick und speichern bei vielen Arten Eisen.

2. Gattung: Crenothrix Cohn. Die hierher gehörigen Fadenbakterien sind seßhaft, unbeweglich und zeigen Basis und Spitze. Die Scheiden sind derb und speichern häufig große Mengen von Eisen. Die Teilung der vegetativen Zellen erfolgt wie überall senkrecht zur Fadenachse. Nur bei der Konidienbildung setzen die Teilungen nach drei Richtungen des Raumes ein. Die austretenden Konidien nehmen eine rundliche Gestalt an.

3. Gattung: Phragmidiothrix Engler. Die vegetativen Zellen sind anfangs zu unverzweigten Fäden vereinigt, teilen sich dann nach drei Richtungen des Raumes. Die Scheiden sind zart und dünn. Sie werden später von Zellen durchwachsen, so daß unechte Verzweigungen entstehen.

4. Gattung: Sphaerotilus (inklus. Cladothrix). Die Zellen sind zylindrisch und in dünnen Scheiden zu dichotom verzweigten Fäden vereinigt, die keinen Gegensatz von Basis und Spitze zeigen. Mitunter speichern die Scheiden geringe Mengen von Eisen. Zur Verbreitung der Art werden Schwärmkonidien ausgebildet, die aus den am Fadenende befindlichen Zellen durch Abrundung derselben unter Hervortreibung eines subpolaren Geißelbüschels hervorgehen. Nach dem Festsetzen der Konidien an einer Unterlage wachsen sie durch Querteilung zu neuen Fäden aus.

5. Familie: **Rhodobacteriaceae.**

Die kugeligen, zylindrischen oder schraubenförmigen Zellen teilen sich nach einer, zwei oder drei Richtungen des Raumes und sind durch Bacteriochlorin und Bacteriopurpurin rosa, rot, rotviolett oder karminrot gefärbt. Die Arten leben entweder frei oder in Wuchsverbänden vereinigt.

1. Gattung: Rhodocystis Molisch. Die Zellen sind zylindrisch, unbeweglich und in großer Zahl in einer gemeinsamen Gallerthülle eingebettet.

2. Gattung: Rhodonostoc Molisch. Die Zellen sind kugelig bis kurzzylindrisch, unbeweglich und zu perlschnurartigen Ketten vereinigt, die eine Schleimhülle umgibt.

3. Gattung: Rhodococcus Molisch. Die freien Zellen sind kugelig und unbeweglich, teilen sich nach einer Richtung des Raumes und bilden keine Wuchsverbände.

4. Gattung: Rhodobacterium Molisch. Die Zellen sind gerade, unbewegliche Stäbchen, welche keine Wuchsverbände ausbilden.

5. Gattung: Rhodobacillus Molisch. Die Zellen sind zylindrisch und beweglich und besitzen keine Neigung zur Erzeugung von Wuchsverbänden.

6. Gattung: Rhodovibrio Molisch. Die sehr lebhaft beweglichen Zellen sind kurz, bohnen- oder kommaartig gekrümmt und haben eine endständige Geißel. Wuchsverbände werden nicht ausgebildet.

7. Gattung: Rhodospirillum Molisch. Die Zellen sind schraubig gekrümmt und tragen polar ein Büschel von wenigen oder zahlreichen Geißelfäden. Wuchsverbände werden nicht erzeugt.

II. Ordnung[1]): **Euthiobacteria.**

Die Zellen sind kugelig, zylindrisch oder schraubig gekrümmt und führen Einschlüsse von Schwefel. Sie sind teils beweglich, teils unbeweglich, in Wuchsverbänden vereinigt oder frei. Die Verbreitung der Art erfolgt vielfach durch bewegliche Konidien. Die Zellen sind farblos oder führen Bacteriopurpurin und Bacteriochlorin.

1. Unterordnung: **Leuco-Thiobacteria** (Bavendamm).

Die zu Fäden vereinigten oder freien, kugeligen oder stäbchenförmigen Zellen sind stets farblos.

1. Familie: **Beggiatoaceae.**

Die Zellen sind zu festsitzenden oder freien Fäden vereinigt.

1. Gattung: Beggiatoa Trevisan. „Fäden immer frei beweglich, ohne Gegensatz von Basis und Spitze. Unter normalen Wachstumsbedingungen stets mit Schwefeltröpfchen. Gliederzellen in fast schwefellosen Fäden meist deutlich, in viel Schwefel führenden oft schwer oder nicht sichtbar. Fadenenden rund, gekrümmt oder zugespitzt. Gleitende Kriechbewegung unter Drehung um die Achse.“ „Vermehrung durch Teilung der Zellen und Zerbrechen größerer Fäden in kleinere Stücke.“

2. Gattung: Thiothrix Winogradsky. „Fäden unbeweglich, gegliedert, mit einer zarten Scheide, einen deutlichen Gegensatz von Basis und Spitze zeigend, durch ein Gallertpolster an feste Gegenstände befestigt; unter normalen Wachstumsbedingungen dicht mit Schwefeltröpfchen gefüllt, so daß die Gliederung der Fäden meist nicht sichtbar ist. Vermehrung durch Fadenabschnürungen (Stäbchenkonidien), die

---

1) Für die Schwefelbakterien wurde die Systematik Bavendamms übernommen und die Gattungscharakteristik, wo unter Anführungszeichen, dessen Monographie: Die farblosen und roten Schwefelbakterien. Gust. Fischer, Jena 1924, wörtlich entnommen.

auf festen Gegenständen kriechend sich langsam bewegen, nach kurzer Bewegungsdauer sich auf verschiedenen Gegenständen festsetzen und zu Fäden auswachsen."

3. Gattung: Thioploca Lauterborn. „Fäden von beggiatoaartigem Aussehen, beweglich, in oft beträchtlicher Zahl nebeneinander verlaufend, zu seilartigen Bündeln vereinigt und verflochten. Nach außen umschlossen von weit abstehenden, farblosen Gallertröhren, die meist mit Schlammpartikeln inkrustiert und bisweilen mit ringförmigen Einschnürungen versehen sind. Gliederung der einzelnen Fäden stets gut sichtbar. Fadenenden häufig zugespitzt."

2. Familie: **Achromatiaceae.**

Die Zellen sind frei und zeitlebens bewegungsfähig.

1. Gattung: Achromatium. „Zellen in der Regel zylindrisch elliptisch. Neben Schwefeltröpfchen befinden sich im Innern mehr oder weniger zahlreich meist große, stark lichtbrechende Kalkkörper. Vermehrung durch Einschnürung in der Mitte."

2. Gattung: Thiophysa Hinze. „In der typischen Form kugelige, mit Schwefeltropfen beladene Zellen, welche von einer die Reaktionen der Pektinstoffe gebenden Membran umgrenzt sind. Der protoplasmatische Wandbelag umschließt eine große zentrale Vakuole, ein Zellkern ist nicht nachweisbar. Bewegung ein langsames und träges Umherwälzen. Geißeln fehlen. Vor der Teilung streckt sich die Zelle in die Länge, schnürt sich biskuitförmig ein und zerfällt in zwei sich später abrundende kalottenförmige Zellen."

3. Gattung: Thiovulum Hinze. „Gewöhnlich eiförmige Zellen, die von einer scharf begrenzten Membran umschlossen sind. Das Protoplasma erstreckt sich bald in zarten Strängen durch die ganze Zelle, bald liegt es in größeren Massen an dem einen Ende des Ovals, so daß das Innere von einer großen Vakuole eingenommen wird. Neben den Schwefeltröpfchen, die gleichmäßig im Wandbelag verteilt sind oder sich in größerer Zahl am plasmareichen Ende ansammeln, finden sich zuweilen an denselben Stellen mattgrünliche runde oder ovale, zuweilen auch etaws eckige Platten von verschiedener Größe. Es handelt sich um einen Reservestoff unbekannter Natur. Auch Chromatinkörner wurden festgestellt. Bewegung sehr lebhaft. Die Zellen rollen, indem sie sich um die Längsachse drehen, schnell und wackelnd dahin. Peritriche Begeißelung nachgewiesen. Vermehrung durch Querteilung."

4. Gattung: Thiospira Wislouch. „Zellen spiralig gewunden, mit polaren Geißeln oder Geißelbüscheln, lebhaft beweglich. Vermehrung durch Querteilung."

2. Unterordnung: **Rhodo-Thiobacteria** Bavendamm.

Die Zellen führen Bacteriopurpurin und Bacteriochlorin, sind also gefärbt.

1. Familie: **Thiocapsaceae.**

Die Zellen sind zu Wuchsverbänden vereinigt und teilen sich nach drei Richtungen des Raumes.

1. Gattung: Thiocystis Winogradsky. „Familien klein, dicht, einzeln oder zu mehreren von einer Gallertzyste umgeben, schwärmfähig. Wenn die Familien eine gewisse Größe erreicht haben, so verlassen sie die Gallertzyste, indem entweder die letztere verquillt und verschleimt und die Familien austreten läßt, oder indem sie nur an gewissen Punkten erweicht, an denen sich die Familien hervordrängen und schließlich in den Schwärmzustand übergehen, oder endlich, indem aus der verschleimten Gallertzyste ein größerer zusammenklebender Komplex von Familien heraustritt, die sich erst nach längerer Zeit durch heftig zuckende Bewegungen voneinander loßreißen und davonschwimmen."

2. Gattung: Thiocapsa Winogradsky. „Familien auf dem Substrat flach ausgebreitet, aus kugeligen, in gemeinsamer Gallerte locker eingebetteten, nicht schwärmfähigen Zellen gebildet. Beim Wachstum der Familien wird die Membran gesprengt und die Zellen wie durch Aufquellen einer Zwischensubstanz weit auseinander getrieben."

3. Gattung: Thiosarcina Winogradsky. „Familien paketförmig, nicht schwärmfähig. — Der Gattung Sarcina unter den Eubakterien entsprechend."

2. Familie: **Lamprocystaceae.**

Die Zellen sind zu Wuchsverbänden vereinigt. Die Teilung erfolgt zuerst nach drei, dann nach zwei Richtungen des Raumes.

1. Gattung: Lamprocystis Schroeter. „Familien anfangs solid, von einer gemeinsamen Gallerthülle umgeben, dann hohlkugelig-netzförmig durchbrochen, endlich in kleine, schwärmfähige Gruppen sich auflösend."

3. Familie: **Thiopediaceae.**

Die Zellen sind zu Familien vereinigt. Die Teilung der Zellen erfolgt nach zwei Richtungen des Raumes.

1. Gattung: Thiopedia Winogradsky. „Familien tafelförmig, aus quaternär geordneten, schwärmfähigen Zellen („Schwefel-Merismopedia")."

4. Familie: **Amoebobacteriaceae.**

Die Zellen sind zu Wuchsverbänden zusammengeschlossen. Die Zellen teilen sich nach einer Richtung des Raumes.

1. Gattung: Amoebobacter Winogradsky. „Familien amoeboid beweglich, Zellen durch Plasmafäden verbunden. Die Zellfamilien verändern langsam ihre Gestalt, indem sich die Zellen selbst zu einem Haufen zusammenziehen oder weit auseinandertreten und so eine Formveränderung der ganzen Familie mit sich bringen. In ruhendem Zustande wird eine gemeinsame Gallerte ausgeschieden, deren Oberfläche zu einer festen Haut wird."

2. Gattung: Thiothece Winogradsky. „Familien mit besonders dicken Gallerthüllen umgeben, in die die Zellen sehr locker eingelagert sind. Schwärmfähig."

3. Gattung: Thiodictyon Winogradsky. „Familien aus stäbchenförmigen, mit ihren Enden zu einem Netz verbundenen Zellen bestehend. Aus einer anfänglich kompakten Stäbchenmasse gehen durch allmähliche Umlagerung hydrodictyonartige Zellverbände hervor,

die sich unter ungünstigen Verhältnissen wieder in solche kompakte Stäbchenmassen zusammenziehen können. Die Vermehrung der Familien erfolgt durch Teilung oder durch Ablösung langsam beweglicher kleiner Zellverbände. Eine Enzystierung wurde nicht beobachtet."

4. Gattung: Thiopolycoccus Winogradsky. „Familien immer solid, unbeweglich, aus kleinen, dicht zusammengepreßten Zellen bestehend. Vermehrung der Kolonien erfolgt dadurch, daß die Kolonien sich an der Oberfläche auflockern und zahlreiche kurze Fetzen und Lappen entstehen und diese in immer kleinere Häufchen zerfallen."

5. Familie: **Chromatiaceae.**

Die zeitlebens schwärmfähigen Zellen sind frei. Die Bewegung erfolgt durch polare Geißeln, die Vermehrung durch Querteilung, vielleicht auch auf geschlechtlichem Wege.

1. Gattung: Chromatium Perty. „Zellen zylindrisch-elliptisch oder elliptisch, vielfach auch bohnenförmig gekrümmt oder keulenförmig. Bewegung durch eine rechtsläufige, polare Geißel. Beim Vorwärtsschwimmen befindet sich die derbe und ziemlich lange Geißel „hinten" und rotiert von rechts nach links, während der Körper von links nach rechts rotiert. Beim Rückwärtsschwimmen umgekehrt. Eine Rückwärtsbewegung tritt nur bei der sogenannten „Schreckbewegung" ein; sie dauert jedoch nicht lange, da die Geißel nicht zurückgeschlagen wird. Die Chromatien sind also — im Gegensatz zu den Thiospirillen — in ihrer Bewegung auf eine einzige Richtung festgelegt. Die Bewegung ist lebhaft. Die Membran der Chromatien gibt keine Zellulosereaktion; sie ist nach Bütschli ein chemisch verändertes Plasmaprodukt."

2. Gattung: Rabdochromatium Winogradsky. „Zellen stab- oder spindelförmig, meist mit unregelmäßigen Umrissen. Bewegung durch polare Geißeln."

3. Gattung: Thiospirillum Winogradsky. „Zellen spiralig gewunden, mit polaren Geißelschöpfen, lebhaft beweglich."

6. Familie: **Rhodocapsaceae.**

Die Zellen sind frei, entweder nicht oder zeitlebens schwärmfähig. Sie zeigen Kapselbildung und besitzen Airosomen oder Schwebekörperchen.

Die Familie der Rhodocapsaecae umfaßt nur zwei Arten, deren Beschreibung hier kurz folgen soll.

Rhodocapsa suspensa Molisch: Die stäbchen- oder fadenförmigen Zellen sind an beiden Enden abgerundet und von einer farblosen, dicken und homogenen Schleimkapsel umschlossen. Zu längeren Wuchsverbänden kommt es nicht, da man in einer Kapsel meist zwei, selten höchstens drei bis fünf Zellen findet. Es scheint bei dieser Art auch ein Schwärmstadium vorzukommen, in welchem die Zellen ohne Schleimkapsel vegetieren. Die Zellen sind nur schwach rötlich gefärbt, weshalb selbst größere Zusammenlagerungen dieser Rhodocapsa nur eine hellrosarote Färbung aufweisen.

Rhodocapsa pendens Molisch: Die Zellen sind rund bis elliptisch und liegen meist nach Diplococcenart zu zweit in einer kugeligen Gallerthülle. Kurze Kettenbildungen kommen vor. Die Zellen selbst

erscheinen farblos, Zellanhäufungen dagegen sind deutlich rot. Die Zellen sind unbeweglich.

III. Ordnung: **Mycobacteria.**

Es handelt sich um den echten Pilzen nahestehene Organismen in Stäbchen- oder Kugelform. Die Zellen bilden entweder ständig oder vorübergehend echte Verzweigungen und myceale Wuchsverbände.

1. Familie: **Mycobacteriaceae.**

Die Zellen wachsen meist in kurzer Stäbchenform. Unter besonderen Kulturbedingungen treten normal Fadenbildungen und echte Verzweigungen auf. Endogene Sporenbildung scheint zu fehlen.

1. Gattung: Corynebacterium Lehm. u. Neum. Die stäbchenfömigen Zellen tragen oft zugespitzte oder keulenförmig erweiterte Enden und zeigen im Innern eine färberisch darstellbare eigenartige Schichtung.

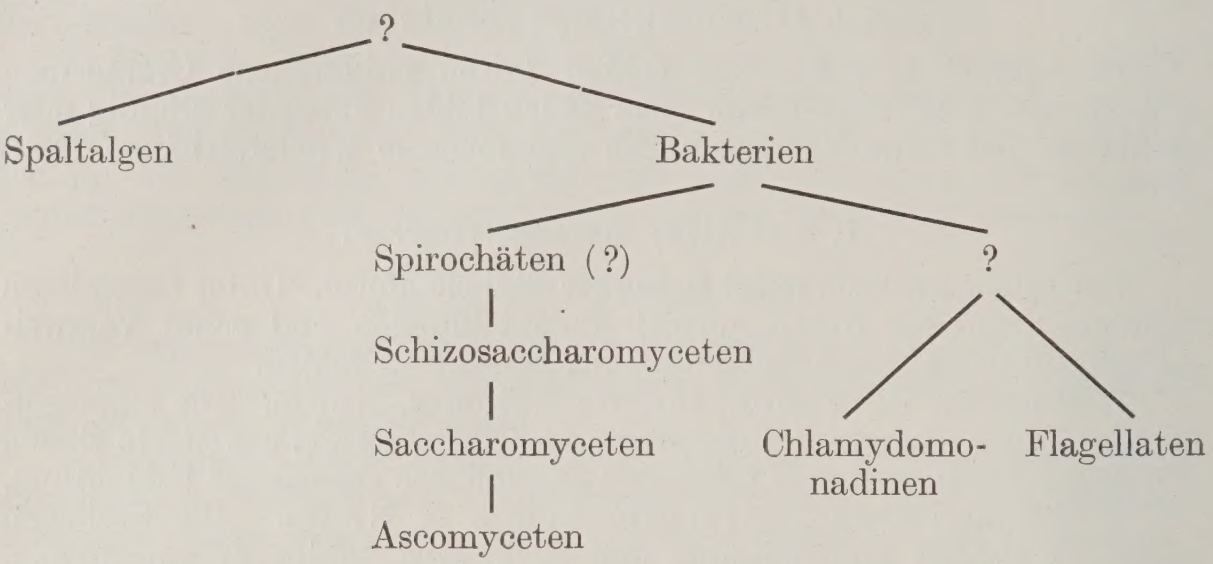
2. Gattung: Mycobacterium Lehm. u. Neum. Die Stäbchen neigen zu starker Fadenbildung und Erzeugung echter Verzweigungen. Durch Zerfall der Zellen in kokkenähnliche Bruckstücke entstehen Gebilde, die mit den „Fragmentationssporen" der Actinomyzeten große Ähnlichkeit besitzen.

2. Familie: **Actinomycetaceae.**

Einzellige, längere oder kürzere, monopodial verzweigte Fäden von einer meist unter einem Mikron liegenden Dicke. Die Zellen sind stets nach Gram färbbar. Endogene Sporen fehlen. Durch Zerfall des vegetativen Fadens entstehen sporenähnliche runde oder zylindrische Teilstücke, deren Widerstandskraft gegen schädigende Einflüsse kaum größer ist als jene der vegetativen Zellen. Eigenbeweglichkeit der Zellen fehlt immer.

Sowohl in der freien Natur als auch in Rohkulturen aus faulenden Substanzen, aus Sumpfwasser, Grabenschlamm u. dgl. findet man besonders mit Spirillen sehr häufig Spirochäten vergesellschaftet. Rein äußerlich betrachtet haben die Spirochäten allerdings eine große Ähnlichkeit mit Spirillen. Man findet deshalb dieselben auch vielfach als eine besondere Familie der Eubakterien aufgeführt. Die neueren Untersuchungen rechtfertigen eine Einreihung derselben unter die Bakterien jedoch nicht mehr. Wenn auch die Fortpflanzung durch Querteilung mit jener echter Spirillen übereinstimmt, so scheint ein zweiter Vermehrungsmodus, und zwar jener der Sproßbildung für Spirochäten ebenfalls typisch zu sein. Dadurch werden sie vielleicht in die Nähe der Hefen gerückt. Jedenfalls stehen sie den pflanzlichen Protisten näher als den tierischen. Vorderhand erscheint eine fixe Einreihung dieser Mikroorganismen auch selbst als Übergangsform nicht am Platze. Am ehesten könnten sie als Überleitung der Eubakterien zu den Schizosaccharomycenten angesehen werden. Die Zusammenhänge der einzelnen Ordnungen niederer Pflanzen untereinander und mit tierischen Protisten sind keineswegs genügend aufgedeckt, um einen einer strengen Kritik standhaltenden Stammbaum aufrichten zu können.

Man kann höchstens den Versuch machen, sich darüber durch die folgende Aneinanderreihung der Ordnungen eine mögliche Vorstellung zu bilden:



Obige Aneinanderreihung brachte schon Migula, mit Ausnahme der Spirochäten, die er den Spirillaceaen als nächste Gattung anschließt. Nach den bisherigen Ergebnissen wird sich vorläufig kaum etwas Besseres an die Stelle obigen Stammbaumes mit Sicherheit setzen lassen.

II. Abschnitt.

Morphologie, Physiologie und Systematik der Hefepilze.

1. Morphologie der vegetativen Hefezelle.

A. Zellform.

Die Hefepilze treten uns in ziemlich variabler Form entgegen. Im allgemeinen gleicht dieselbe einer Kugel oder einem kurzen oder gestreckten Ellipsoid oder einem Ei oder endlich einer Zitrone. Die Form erfährt aber bei der Entwicklung mannigfache Veränderungen, entsprechend dem Entwicklungszustande der Zelle und den äußeren Bedingungen. Es sei hier nur vorläufig an die wurstförmigen Zellen erinnert, die sich in den Sproßmycelien an der Oberfläche von Flüssigkeitskulturen ausbilden. Unsere Figur 69 zeigt uns die typischen Grund-

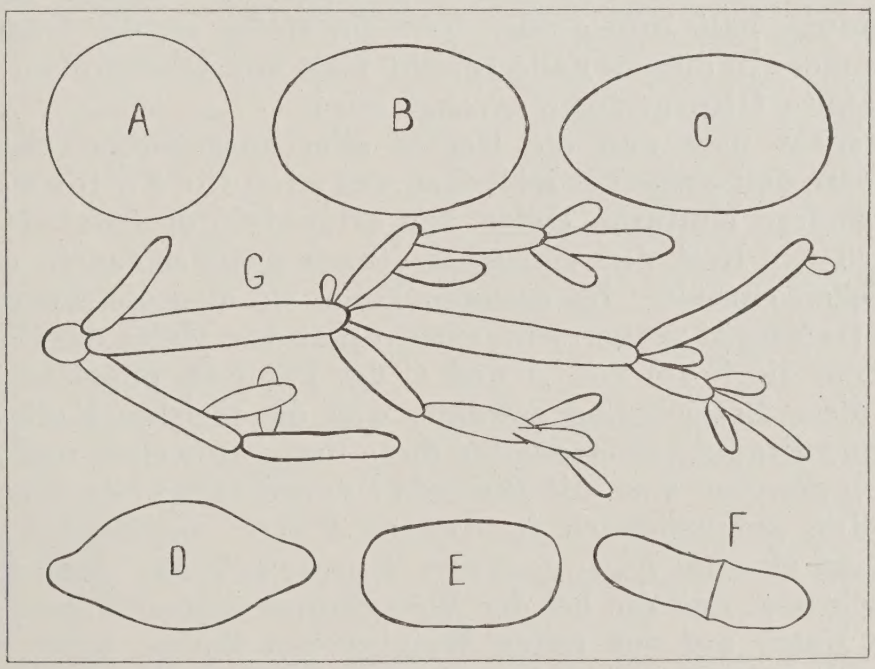


Fig. 69.

formen, auf die die Formen der Hefezellen zurückgehen. In *A* dieser Figur sehen wir im optischen Schnitt die Kreisform, in *B* das Ellipsoid, in *C* die Eiform, in *D* die Zitronenform und in *E* und *F* die mehr zylindrischen, unregelmäßigen Gestalten, die sich besonders bei den Spalthefen finden. *G* der Figur 69 führt uns endlich ein Stück eines Sproß-

myzels vor Augen, in dem neben kürzeren, ovalen Zellen auch längere, wurstförmige Gebilde vorkommen, wie sie sich in allen durch Hefezellen hervorgebrachten Kahmhäuten einstellen. Alle genannten Formen sind auch hier durch eine lückenlose Reihe von Übergangsformen miteinander verbunden, so daß eine Unterscheidung der Arten auf Grund der Zellformen allein wohl in den meisten Fällen unmöglich ist, wenn auch die Formen bei der systematischen Sichtung der Gruppen ein wertvolles Hilfsmittel sind.

Die Form der Hefen wird auch durch das Milieu wesentlich beeinflußt. Die sogenannten Kulturhefen zeigen ihnen gruppenweise charakteristische Eigentümlichkeiten, auf die gleich hier hingewiesen sei. Beimpft man eine Reihe von Kulturgläsern mit verschiedenen Hefearten, wie z. B. solchen aus der Brauerei, Brennerei und Weinbereitung und hält diese Kulturen bei Zimmertemperatur, so bemerkt man nach einigen Tagen in allen Proben eine allgemeine Trübung mit Gasbildung, also ein Zeichen der einsetzenden Gärung. Schon sehr bald zeigen die verschiedenen Kulturen makroskopisch wahrnehmbare wesentliche Unterschiede. Einige Proben enthalten die angewachsenen Hefemassen nach Einstellung der ersten stürmischen Gärungserscheinungen bei allmählicher Klärung der Nährflüssigkeit auf dem Grunde derselben. Die Arten von Hefen, die dies zeigen, bezeichnet man als Unterhefen, und die Hefemassen am Grunde des Gefäßes als Satzhefe, Depothefe oder Bodensatzhefe. Bei der durch diese Unterhefen hervorgerufenen Gärung bildet die Flüssigkeit fast keinen Schaum, der die Hefen an der Oberfläche hält und sie erst sehr spät nach der Gärung wieder in die Flüssigkeit zurücksinken läßt. Eine zweite Gruppe von Kulturen wird ein sehr heftiges Schäumen der Flüssigkeit während der Gärung zeigen. Die Schaumbildung hält zum großen Teil die Hefen an der Oberfläche auf dem Schaume. In diesem Falle spricht man von Oberhefen, durch die die sogenannte Obergärung erzeugt wird.

Untersucht man nun die Depots aller ausgegorenen Kulturen, so bemerkt man, daß einige der Kölbchen vorwiegend Zellen von Kugelgestalt, andere Kulturen Hefen von elliptischer Gestalt aufweisen und endlich der Rest der Versuchskulturen mehr schlauch- oder wurstförmige Zellen enthält. Im ersteren Falle, wo also die Kugel- oder Eigestalt im Hefedepot vorherrscht, spricht man von Hefen des Cerevisiae-Typus, dem die Form von *A* und *C* der Figur 69 ungefähr entspricht. Man hat diese Bezeichnung gewählt, weil die meisten Kulturhefen der Brauerei und Branntweinerzeugung diese Form aufweisen und man schon seit Meyen gewohnt war, die Bierhefe Saccharomyces cerevisiae zu nennen. Die hauptsächlich in ovaler Form wachsenden Hefen bezeichnet man als zum Ellipsoideus-Typus gehörig. Man macht auch die Beobachtung, daß die bei der Weingärung tätigen Hefen, die sich in der freien Natur auf den reifen Weintrauben finden, meist diese elliptische Gestalt aufweisen, wie sie auch in *B* der Figur 69 wiedergegeben ist. Die Satzhefen von mehr schlauch- oder wurstförmiger Gestalt gruppiert man als Saccharomyceten von Pastorianus-Typus. Es handelt sich dabei vielfach um Hefen, die sich bei der spontanen Weingärung einstellen, und Hefen, welche aus der Luft in das Braugut gelangen und dort sehr unliebsame Nach- und Nebengärungen verursachen. Wegen dieser schädlichen Eigenschaft bezeichnet man die letzteren Hefen auch

als Krankheitshefen. Wie schon angedeutet, unterliegt die Form der Zellen einer und derselben Hefeart beträchtlichen Schwankungen, die in erster Linie auf äußere Einflüsse des Nährbodens und der Temperatur zurückgehen. Ein gutes Beispiel dafür bietet nach den Unter-

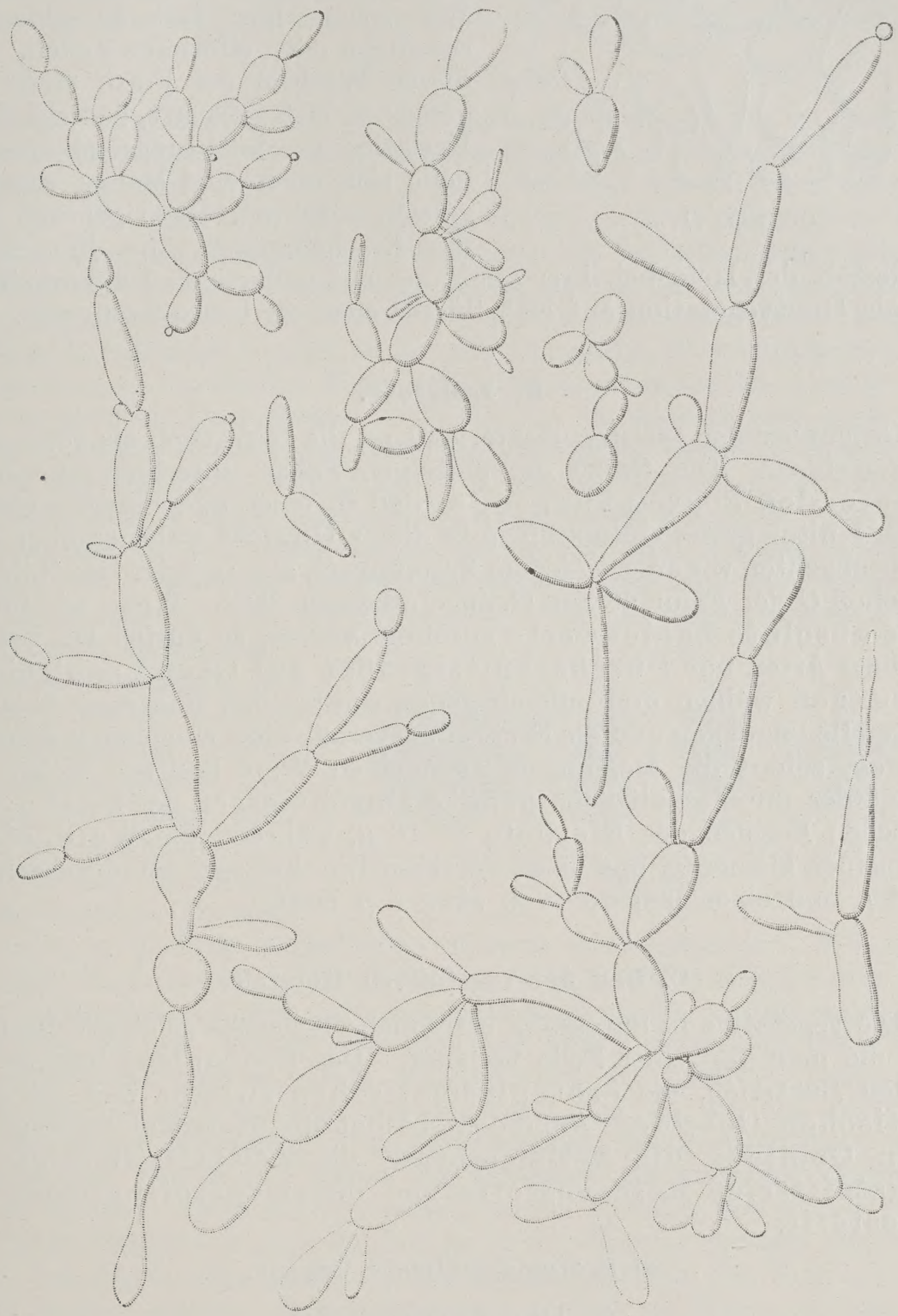


Fig. 70.

suchungen Hansens die Carlsberg-Unterhefe Nr. 1. Es wurde in dem einen Falle die frische Kultur in Bierwürze von einer bereits ein Jahr in einer 10proz. Rohrzuckerlösung aufbewahrten reinen Carlsberg-Unterhefe Nr. 1 angelegt und dann bei 7,5° C gehalten. In dieser frischen

Kultur finden sich nun Zellgruppen, deren einzelne Zellen in der Figur 70[1]) nach Hansen wiedergegeben sind. Auffallend ist die große Anzahl wurstförmiger Zellen. Figur 71[1]) zeigt uns dieselbe Hefeart. Die Zellen stammen aber aus dem Bodensatz nach der Hauptgärung. Wir sehen hier fast ausschließlich rundliche oder eiförmige Zellen. Für diesen Wechsel der Form einer und derselben Hefezellenart, bedingt durch Variation der Züchtungsbedingungen, ließe sich noch eine Menge von Beispielen anführen. Dazu gehören auch die Erscheinungen, die hinsichtlich der Gestalt der Hefe bei ihrer Züchtung auf gallertigen Nährsubstraten und als Hautvegetation auf Nährflüssigkeiten zu beobachten sind.

Fig. 71.

B. Zellgröße.

Gegenüber den meisten Bakterien sind die Hefezellen als sehr groß zu bezeichnen. Die **Größe** der einzelnen Zellen unterliegt aber sehr bedeutenden Schwankungen, so daß in einer und derselben selbst jungen Kultur große Unterschiede in dieser Hinsicht wahrnehmbar sind. Dies beobachten wir auch in jedem Sproßmyzel, also in jeder Hautbildung, wie schon *G* der Figur 69 zur Genüge erkennen läßt. Wenn wir für die Größe absolute Zahlenwerte anführen wollen, so dürfen wir bei den einzelnen Arten nur Durchschnittsgrößen auf Grund zahlreicher Messungen wählen und müssen genau wie bei den Bakterien über alle äußeren Bedingungen und die Ernährungsverhältnisse eingehende Angaben beifügen, sofern die Messungen irgendeinen Wert besitzen sollen. So beträgt der durchschnittliche größte Durchmesser der kurzen, ellipsoidischen Formen der Bierhefe 8—10 μ, während die Weinhefe im allgemeinen kleiner ist und einen kürzeren Durchmesser von durchschnittlich 4 μ und einen längsten von etwa 6 μ besitzt.

C. Bau der vegetativen Hefezelle.

Die vegetative in Sprossung befindliche Hefezelle zeigt alle Bestandteile, die man von einer Zelle verlangt. Der Protoplast umfaßt, wie bei den Bakterien, die protoplasmatischen Organe und die alloplastischen Gebilde. Außerdem besitzt die Hefezelle an ergastischen Gebilden die Zellmembran, die Zellsaftvakuolen, die stickstofffreien Reservestoffe und die stickstoffhaltigen Reservestoffe.

a) Protoplasmatische Organe.

1. Das Zytoplasma.

Hinsichtlich des Zytoplasmas herrschen die gleichen Verhältnisse wie bei den Bakterien. Dasselbe ist an sich homogen und enthält eine Reihe von Einschlüssen, durch welche der Anschein einer wabigen oder

1) Die Figuren 70 und 71 sind dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar, Bd. IV, S. 9 und 11 entnommen.

netzigen oder endlich körnigen Struktur des Plasmas erweckt wird. Der die Zelle begrenzende und die in derselben liegenden Vakuolen umsäumende Anteil des Zytoplasmas ist wasserärmer und enthält keine auch kleinsten Einlagerungen, so daß er vollständig gleichmäßig erscheint. Das im Zellinnern befindliche Plasma ist wasserreicher und weniger konsistent. Das Zytoplasma ist farblos und wenig lichtbrechend.

2. Der Zellkern.

Heute wissen wir, daß die Hefezelle einen Kern besitzt und daß sich an ihm während der Sprossung und Sporenbildung eine Reihe von Vorgängen abspielt, die sich teils mit jenen bei der Mitose, teils mit jenen bei der Amitose der höheren tierischen und pflanzlichen Zelle decken. Über die Kernteilung selbst gehen die Untersuchungsergebnisse allerdings ziemlich stark auseinander, da sowohl bei den verschiedenen Hefearten als auch bei den Zellen der gleichen Art verschiedene Teilungsvorgänge beschrieben worden sind. Der ruhende, nicht unmittelbar in Teilung befindliche Kern hat eine scheibenförmige Gestalt und mißt im größten Durchmesser etwa 2,5 μ. Es kommt aber auch sehr häufig zu Deformationen, die durch nebenliegende Vakuolen oder andere größere Zelleinschlüsse bedingt sind. In diesem Falle nimmt er die Form einer mehr oder weniger gekrümmten Konkavkonvexlinse an. Die Lage des Kernes in der Zelle ist variabel und wird sozusagen ständig geändert. Wir sehen ihn deshalb oft wandständig oder auch mehr dem Zentrum genähert. Der Kern wird aber nur in den wenigsten Fällen passiv durch andere Zelleinschlüsse verlagert, er vermag vielmehr aktiv im Protoplasma durch eine Art amoeboider Bewegung seine Lage und Form zu verändern. In Figur 72 sind die meist vorherrschenden Formen des nicht in Teilung befindlichen Kernes wiedergegeben. Wir sehen hier auch die geformten Kernbestandteile. Eine Kernmembran, deren Vorhandensein zwar vielfach angezweifelt wurde, umgibt den ganzen Kern (Fig. 72, *m*). Dieser setzt sich aus einem Kernsaft (Fig. 72, S) und einem Netzwerk, dem Kerngerüst (Fig. 72, *N*), zusammen. Im Kerngerüst liegt dann ein Kristalloid (Fig. 72, *K*), das sich kaum von den früher genannten Eiweißkristalloiden des Protoplasmas unterscheidet und von Kohl zuerst im Hefekern als ständiger Einschluß erkannt wurde. Auch die von verschiedenen Autoren berichteten Beobachtungen von Nukleolen dürften nach den Untersuchungen von Kohl dahin auszulegen sein, daß eben die Kernkristalloide für Nukleolen gehalten worden waren. Hervorzuheben ist, daß im Kern immer nur ein einziges Kristalloid nachzuweisen ist. Bei vorsichtiger Färbung mit schwächer färbenden Anilinfarben ohne vorherige Färbung der Zelle gelingt es übrigens leicht, dasselbe tadellos zur Ansicht zu bringen.

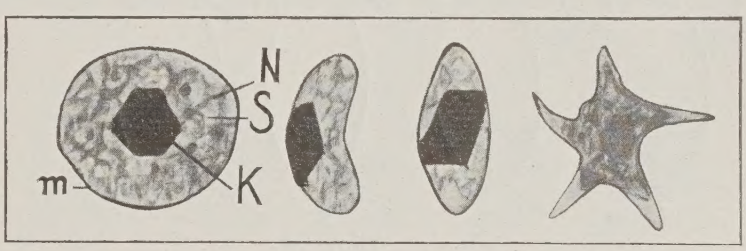


Fig. 72.

Bei der Sprossung spielt sich nun am Kern eine Reihe von Teilungserscheinungen ab, die im allgemeinen zu einer Zweiteilung des Kernes führen. Die vegetative Vermehrung der Hefezellen erfolgt, mit Aus-

nahme derjenigen der Schizosaccharomyceten, durch die Bildung von Sprossen oder Knospen. An einer Stelle der Zellwand tritt eine kleine Ausstülpung hervor, die sich immer mehr vergrößert und dann, wenn sie fast die Größe der Mutterzelle erreicht hat, durch eine Wand abgeschnürt wird. In der Figur 73 ist die Sprossung einer Zelle schematisch wiedergegeben, wobei nur die Zellumrisse eingezeichnet sind, ohne auf die Inhaltsstoffe eine Rücksicht zu nehmen. Wir sehen hier einzelne Stufen aus der Entwicklung der Sproßzelle, bis sie durch die Einfügung einer Wand von der Mutterzelle getrennt wurde. Häufig bleiben die Sproßzellen noch lange mit der ursprünglichen Zelle in Verbindung und treiben noch vor Erreichung der vollen Größe neue Sprossen, mit denen sie wieder im Zusammenhang verbleiben können.

Bei der Sprossung teilt sich nun der Kern in zwei Teile, von denen der eine in der Mutterzelle verbleibt und der andere in den Sproß einwandert. Über die Teilungsvorgänge am Kern zur Zeit der Sprossung liegen nun mehrere abweichende Beobachtungen vor, aus denen hervorgeht, daß dieselben auch bei einer Art von Hefezellen verschieden verlaufen können, ohne daß wir die Ursache dafür bereits erkannt hätten. Jedenfalls kann die Teilung auf mitotischem und amitotischem Wege erfolgen. Im ersteren Falle kommt es zur Ausbildung aller jener Einrichtungen, am Kern, durch die eine vollständig gleiche Aufteilung der chromatischen Substanz auf die Tochterkerne herbeigeführt wird. Nach den an Saccharomyces cerevisiae gemachten Beobachtungen verläuft der Kernteilungsvorgang auf mitotischem Wege folgendermaßen:

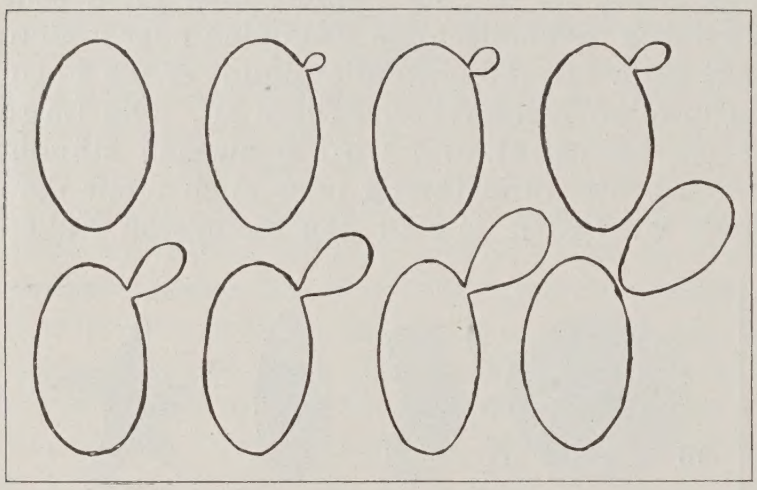


Fig. 73.

Zuerst findet eine Auflockerung des ruhenden Kernes unter Zunahme an chromatischer Substanz statt, wobei die Kernmembran undeutlich wird und verschwindet. Dann erfolgt die Ausbildung von Chromosomen, deren Zahl allerdings nicht mit voller Sicherheit bisher bestimmt werden konnte. Wahrscheinlich dürften vier Chromosomen entstehen. Diese ordnen sich dann unter Ausbildung einer mehr oder minder deutlich nachweisbaren Teilungsspindel zum Monaster. Ein Zentrosoma konnte an den Polen der achromatischen Spindel nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden, da alle derartigen Gebilde, die man bisher damit identifizieren zu können glaubte, nach den Untersuchungen Kohls Kernkristalloide sein dürften. Im Monasterstadium findet dann die Teilung der Chromosomen in je zwei Tochterchromosomen statt, die sich längs der Spindel zum Dyaster ordnen, polwärts wandern und, am Spindelpole angelangt, sich zu den ruhenden Kernen umlagern.

Bei dieser polaren Umlagerung entsteht zuerst aus den Chromosomen ein lockerer Knäuel, in dem sich die chromatische Substanz später verdichtet und so zur Bildung des dichten Knäuels führt, aus dem unmittelbar nach Abnahme des Chromatins der ruhende Kern hervorgeht. Dann haben wir zwei Tochterkerne, von denen einer in der Mutterzelle verbleibt, während der zweite für die Sprosszelle bestimmt ist. Die Überwanderung des einen Tochterkernes in die Knospe erfolgt meist unmittelbar vor Ausbildung des Knäuelstadiums, so daß man in derselben noch die Reste der achromatischen Spindel häufig beobachten kann.

Nach zahlreichen Beobachtungen können wir sagen, daß im allgemeinen die Knospung in einem späteren Zeitpunkt unabhängig von der Lage des Kernes einsetzt als die Kernteilung. In den meisten Fällen beginnt erstere zur Zeit des Monasterstadiums, kann aber auch gleichzeitig mit der Kernteilung erfolgen. In den seltensten Fällen tritt die Knospung erst nach vollendetem Dyaster auf.

In der Figur 74 ist die Karyokinese des Kernes von Saccharomyces cerevisiae etwas schematisiert nach den Untersuchungen von Fuhrmann dargestellt. *1* zeigt uns die Hefe mit dem ruhenden Kern samt der Kernmembran. In *2* ist die Auflockerung des Kernes und das Verschwinden der Kernmembran zur Anschauung gebracht, während *3* bereits die achromatische Spindel und die zum Monaster gelagerten Chromosomen erkennen läßt. In *4* sehen wir das gleiche Stadium der Teilung wie in *3*, aber von der Seitenansicht, in der der Spindelapparat mit den Chromosomenmassen deutlich zu beobachten ist. In *6* gewahren wir die bereits geteilten Chromosomen, wie sie den Dyaster zusammensetzen, um nunmehr den Polen der Spindel längs der achromatischen Fäden sich zu nähern, In *7* haben die Tochterchromosomen den Spindelpol erreicht. *8* zeigt uns die Hefe mit der jungen Knospe, in die nunmehr der eine Tochterkern einwandert, was in *9* bereits geschehen ist. *10* entspricht endlich der Hefe mit der Knospe, die je einen Tochterkern im Ruhestadium enthalten.

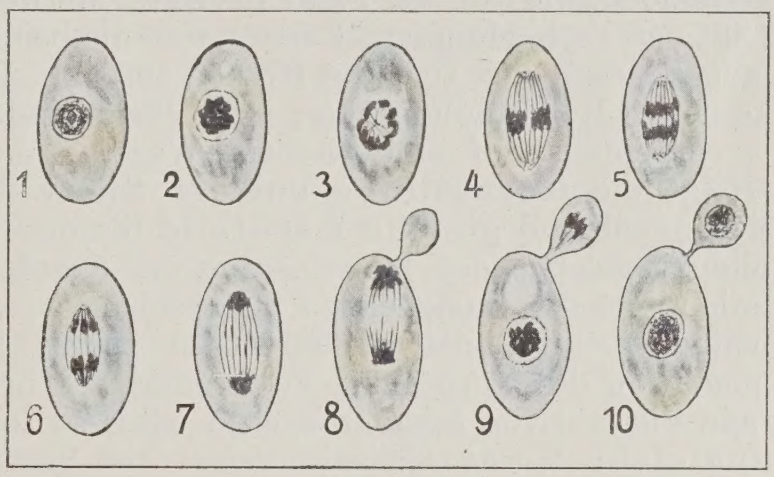


Fig. 74.

Wie schon angedeutet, erfolgt die Kernteilung bei der Sprossung auch durch einfache Fragmentation, wie zahlreiche Untersuchungen ergeben haben, darunter auch diejenigen Kohls. Auch bei der Fragmentation des Kernes schwillt zuerst die Chromatinmasse unter Substanzzunahme an und die Kernmembran verschwindet. Wir sehen diese Stadien in *A* und *B* der Figur 75 abgebildet. *A* bezieht sich auf den ruhenden Kern, während *B* bereits den chromatinreicheren, länglich ausgezogenen und in der Mitte leicht biskuitartig eingeschnürten Kern zeigt, der bereits eine Hantelform aufweist. Die

beiden aufgetriebenen Kernteile gehen dann immer weiter voneinander weg, und der Verbindungsfaden wird immer dünner, wie es *C* der Figur 75 erkennen läßt. In diesem Stadium der Teilung hat die Zelle meist schon eine ziemlich große Knospe, in die nun der ihr zunächst befindliche Kernteil einwandert, wie es *D* der Figur 75 zeigt. Es erfolgt diese Wanderung aktiv, indem der für den Sproß bestimmte Kernteil einen Faden entsendet, der in dieselbe hineinzieht. Der übrige Kern wandert so durch die Verbindungsstelle von Mutterzelle und Knospe hindurch, bis sich die gesamte Kernhälfte darin befindet. Die beiden Tochterkerne bleiben noch längere Zeit hindurch mit einem feinen Faden

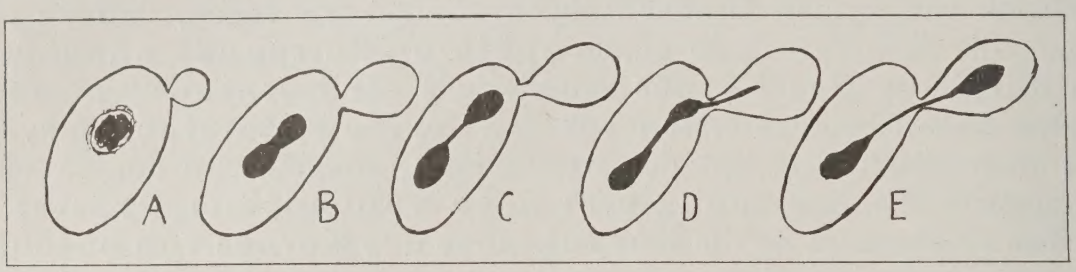


Fig. 75.

verbunden, wie es *E* der Figur 75 zeigt. Mit der Abschnürung der Knospe reißt das Verbindungsstück durch und die beiden Reste des Verbindungsfadens ziehen sich zu ihren Kernen zurück. Dann gehen beide Tochterkerne ins Ruhestadium über, um alsbald eine neue Teilung zu beginnen.

Ebenfalls auf amitotischem Wege, also durch Fragmentation, erfolgt die Kernteilung bei der Sporenbildung. Dabei ergeben sich annähernd gleiche Kernteile für die meist in Vielzahl zur Ausbildung gelangenden Sporen. Bei der Kernteilung während der Sporulation sind die entstehenden „Sporenhanteln", wie Kohl die in Teilung befindlichen biskuitförmigen Kerne nennt, kleiner als bei der Fragmentation des Kernes zur Versorgung von Sprossen. Wenn eine ungerade Vielzahl von Sporen angelegt wird, so sind die beiden Hantelköpfe ungleich: Werden beispielsweise drei Sporen ausgebildet, so haben wir bei der ersten Kernteilung einen größeren und einen kleineren Hantelkopf, wodurch zwei ungleich große Tochterkerne hervorgehen, von denen sich der größere abermals amitotisch teilt, so daß also drei annähernd gleich große Tochterkerne für die drei Sporen entstehen. Gewöhnlich wird der gesamte Kern restlos für die Sporen aufgeteilt. Vielfach beobachtet man aber auch Fälle, bei denen ein Tochterkern oder selbst mehrere in der Sporenmutterzelle zurückbleiben. Letzteres scheint allerdings selten der Fall zu sein. Eine gute Vorstellung von der Aufteilung des Kernes bei der Sporenbildung geben uns die Schemata von Kohl, die hier in Figur 76 nach dessen Zeichnungen wiedergegeben seien.

A zeigt uns die Sporenmutterzelle, deren Kern einfach zum Sporenkern wurde. Dieser Fall tritt immer dann ein, wenn nur eine Spore in dem Askus zur Ausbildung gelangt. Die um den Kern gezogene punktierte Linie entspricht der Sporenmembran. Wenn zwei Sporen entstehen, teilt sich der Kern in zwei gleich große Teilstücke, die je eine Spore versorgen. *B* zeigt uns diese Verhältnisse im Schema. Der ursprüngliche, in der Mitte der Zelle liegend angenommene Kern, in der Zeichnung als Kreisring dargestellt, liefert durch Fragmentation die beiden

Tochterkerne für die Sporen. Werden drei Sporen angelegt, dann entsprechen die dabei obwaltenden Teilungsverhältnisse *C* der Figur 76. Zuerst erfolgt eine Zweiteilung des Mutterkernes. Der eine Tochterkern, oben in der Figur liegend, wird zum Kern der einen Spore, während der zweite Tochterkern sich abermals durch Zerschnürung in zwei gleiche Kerne teilt, die die zwei anderen Sporen versorgen. Entstehen im Askus

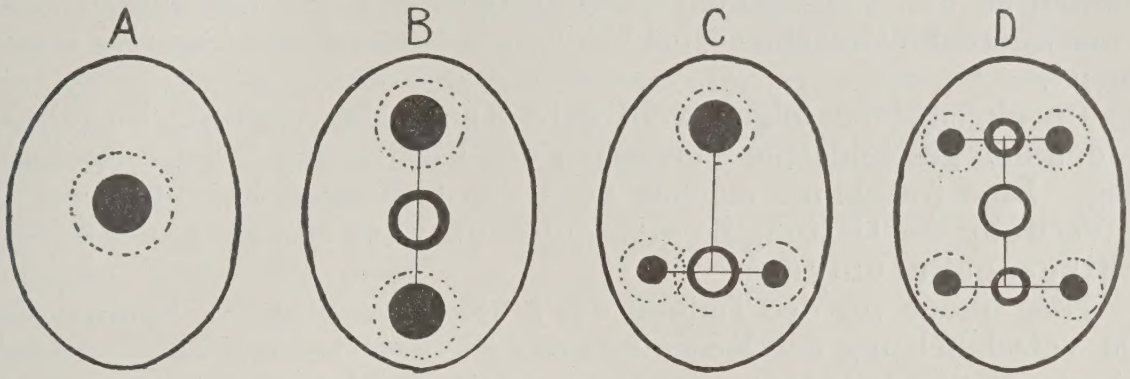


Fig. 76.

vier Sporen, so besteht das Schema *D* der Figur 76 zu Recht. Der Mutterkern teilt sich zu zwei Tochterkernen, die durch eine weitere Teilung insgesamt vier Kernteile für die vier Sporen liefern. Die hier aufgestellten Schemata gelten aber nur für diejenigen Fälle, in denen der Mutterkern für die Sporen restlos aufgebraucht wird.

Etwas anders erfolgt die Kernversorgung der Sporen dann, wenn in der Mutterzelle ein Kern zurückbleibt, was, wie schon gesagt, oftmals vorkommt. Nach Kohl lassen sich für die verschiedene Anzahl von Sporen in diesem Falle die in Figur 77 wiedergegebenen Schemata aufstellen. Hier ist wieder der Sporenkern voll ausgezogen und mit einem punktierten Kreis umzogen, während der in der Mutterzelle restierende Kern nur voll ausgemalt ist und die nicht bleibenden Teilungsprodukte des Kernes durch einen Kreis angedeutet sind. *A* zeigt uns die Verhältnisse bei der Ausbildung einer einzigen Spore. Nach einer einfachen

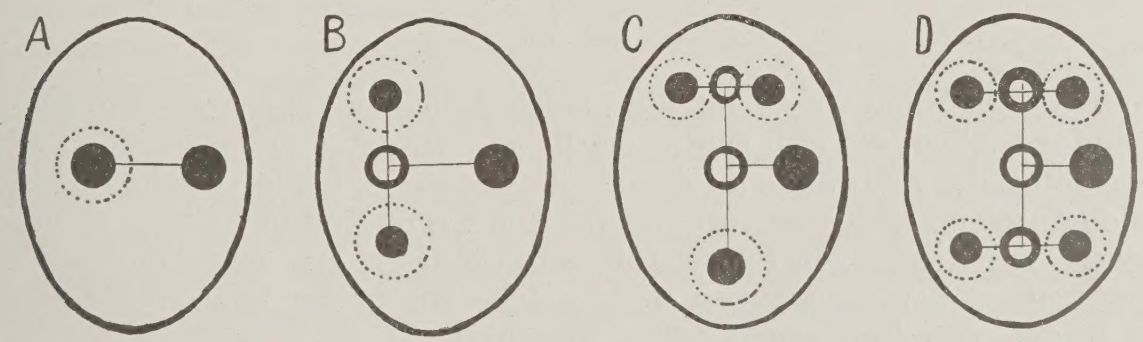


Fig. 77.

Fragmentation wird der eine gleich große Tochterkern zum Sporenkern, während der zweite in der Mutterzelle verbleibt. *B* gibt uns eine Vorstellung von jenen Fällen, in denen zwei Sporen zur Ausbildung gelangen. Der eine bei der Fragmentation des Mutterkernes entstehende Tochterkern teilt sich zu zwei Enkelkernen, die die Sporen versorgen, während der andere Tochterkern in dem Askus verbleibt. Werden drei Sporen gebildet, so findet dabei die Kernteilung nach dem Schema *C*

der Figur 77 statt. Wieder teilt sich nur ein Tochterkern zu den Sporenkernen weiter. Derselbe liefert zwei Enkelkerne, von denen der eine unmittelbar zum Sporenkern wird, während sich der zweite nochmals amitotisch in zwei Teile teilt, die dann die Kerne der zwei weiteren Sporen sind. Entstehen vier Sporen, dann liefert die Teilung des Mutterkernes zwei Tochterkerne, von denen sich nur der eine durch weitere Fragmentationen zu den vier Sporenkernen aufteilt, während der andere wieder in der Sporenmutterzelle zurückbleibt, wie es aus *D* der Figur 77 ersichtlich ist.

Im allgemeinen folgen wohl alle Arten der Gattung Saccharomyces den geschilderten Vorgängen der Kernteilung bei der Sporenbildung. Eine Ausnahme machen nach den bisherigen Erkenntnissen nur die Vertreter der Gattung Zygosaccharomyces und einige der Gattung Schizosaccharomyces.

Hier findet vor der Teilung des Mutterkernes zu den Sporenkernen eine Verschmelzung der Kerne zweier Zellen statt. Wir haben es dabei mit einem Kopulationsvorgang zu tun, also einem Sexualakt. Während der Askusbildung treiben zwei nebeneinander liegende Zellen je einen kleinen Fortsatz gegeneinander. Nach der Berührung derselben findet eine Resorption der Zellwände an der Berührungsstelle statt, und die Kerne der fusionierenden Zellen wandern in den Verbindungskanal, wo eine Verschmelzung derselben erfolgt. Der aus beiden hervorgegangene neue Kern teilt sich dann erst zu den Sporenkernen. Diese Teilungen sind einfache Fragmentationen unter Ausbildung der Kernhanteln, wie wir es schon früher kennen lernten. Als ein Beispiel sei hier der Vorgang der Fusion der Kerne von Zygosaccharomyces Barkeri im Bilde nach den Untersuchungen Barkers wiedergegeben[1]).

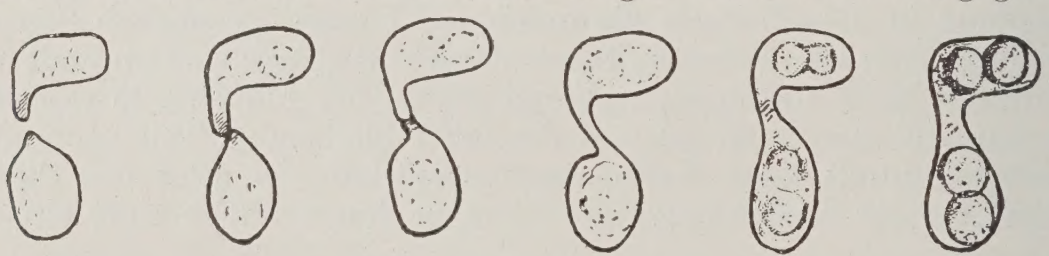


Fig. 78.

Wir sehen in Figur 78 zuerst die beiden Zellen, welche Fortsätze gegeneinander treiben, die sich später berühren. In der Folge erscheinen nach Resorption der Zellwände an der Berührungsstelle beide verschmelzenden Zellen durch einen Kanal verbunden. Die Kerne sind nicht eingezeichnet, sondern nur die jungen Sporenanlagen punktiert, aus denen die vier fertigen Sporen hervorgegangen sind, welche wir in der letzten Abbildung der beiden verschmolzenen Zellen gewahren.

b) Ergastische Gebilde.

1. Die Zellhaut.

Die Hefezelle ist nun allseits von einer **Zellhaut** umgeben. Dieselbe stellt eine mäßig lichtbrechende und farblose Hülle dar, deren

1) Die Abbildung 78 stammt aus Lafars Handbuch der techn. Mykologie, Bd. IV, S. 34.

Dicke große Verschiedenheiten aufweist. Dieselbe kann unter pathologischen Verhältnissen so dünn werden, daß die Zelle den Eindruck eines nackten, amöboid beweglichen Protoplasmas macht, das in der Tat seine Gestalt verändert und unter Bildung von pseudopodienartigen Fortsätzen sich träge fortbewegt. Die Gestaltsveränderungen gehen in diesem Falle sogar ziemlich rasch vor sich, wie die nach Hennebergs Zeichnungen angefertigten und in Figur 79 wiedergegebenen Skizzen es zeigen. Die beigesetzten Zahlen geben die Minuten an, innerhalb welcher die Umwandlung einer Form in die andere erfolgte. In zwanzig Minuten fand der Übergang aus der links gezeichneten lappigen Form zur reinen Kugelgestalt am Ende der Reihe statt. In diesem Falle scheint tatsächlich überhaupt keine Zellwand vorhanden gewesen zu sein. Es lag also ein nacktes Protoplasma vor, wie wir es an den Amoeben sehen. Solche krankhaft veränderte Zellen starben allerdings nach kurzer Zeit.

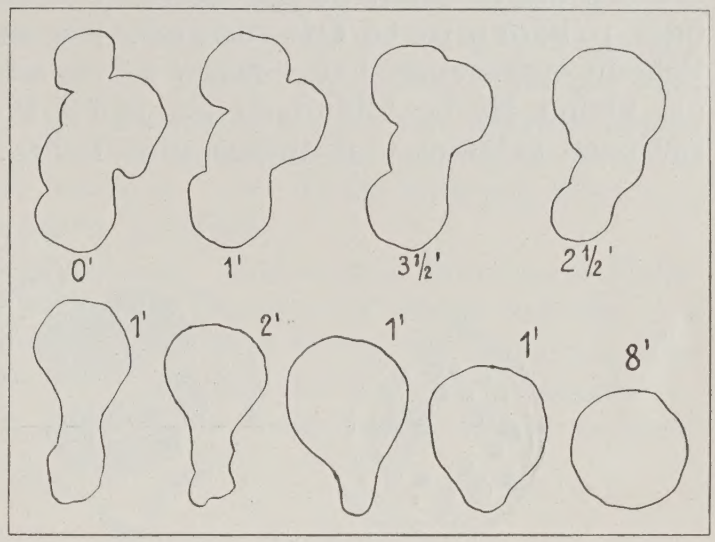


Fig. 79.

Normalerweise hat die junge Sproßzelle oder Hefezelle überhaupt eine dünne Zellwand, deren Dicke im Mittel etwa ein halbes Mikron mißt. Für die Betriebshefe von Münchner Lagerbier hat es sich ergeben, daß die Membran derselben bei der Zucht in konzentrierteren Würzen eine Dicke von 0,7—0,9 μ erreicht. Ganz allgemein können wir sagen, daß die Membran junger Zellen dünn und im lebenden Zustande kaum zu beobachten ist, während sie mit dem Alter der Zellen an Dicke und Festigkeit zunimmt. Die sogenannten Dauerzellen des Heferinges besitzen besonders dicke Zellwände. Ein Hefering entsteht dort, wo die von den Zellen auf Nährflüssigkeiten gebildeten Kahmhäute an die Wand des Zuchtgefäßes grenzen. Im Hefering finden wir nun kugelige vergrößerte Zellen, die Will eben als Dauerzellen bezeichnete. Die Dicke ihrer Haut schwankt zwischen 0,7 und 0,9 μ und erreicht oft auch 1 μ. An den Membranen der Dauerzellen hat nun Will zuerst eine Schichtung wahrnehmen können, die nach einer Salzsäurebehandlung besonders deutlich wird. Man sieht gewöhnlich zwei Schichten, kann mitunter aber auch eine Mehrschichtigkeit beobachten. Nach den Untersuchungen anderer Forscher besteht die Zellhaut der Hefe in jedem Alter aus zwei Schichten, aus einer inneren und äußeren, die nach einer Behandlung mit Chromsäure- oder Osmiumlösung deutlicher hervortreten.

Wenn die Zellhaut verdickt ist, lösen sich die äußeren Membranteile meist in Form von Schalen ab, was man an Dauerzellen gut beobachten kann. In der von Will stammenden Figur 80 sehen wir drei Dauerzellen, von dem genannten Autor bei ca. 2000facher Vergrößerung abgebildet. Sie betreffen eine untergärige Bierhefe. In *a* ist eine

Dauerzelle, gefüllt mit den später zu erörternden Öltröpfchen und Ölkörperchen, wiedergegeben, an der sich ein großer Teil der Haut abgeblättert hat. Diese Spaltung der Haut zeigt *b* noch besser, wo eine abgestorbene Dauerzelle abgebildet ist, deren Plasma klumpig zusammengeballt erscheint. In *c* endlich haben wir die Abbildung einer Dauerzelle, deren äußere Membranschicht sich ringsum abgelöst hat. Dieselbe erreicht eine Dicke bis zu 0,5 μ, während die innere Schicht meist erheblich dünner bleibt und auch dehnbarer und nachgiebiger ist. Dieses Schälen der Schichten tritt ganz besonders bei der Zucht der Hefe in Nährsalzlösungen ein, während diese Erscheinungen in Würzekulturen seltener zu beobachten sind.

An der Zellhaut der gesunden Hefezelle finden sich keine Lücken oder präformierte Öffnungen, wie es Bizzozero für die innerste Schicht angegeben hat. Diese scheinbaren Poren sind nichts anderes als kleine Narbenbildungen an jenen Stellen, wo sich Knospen oder Sprossen gebildet und abgeschnürt haben.

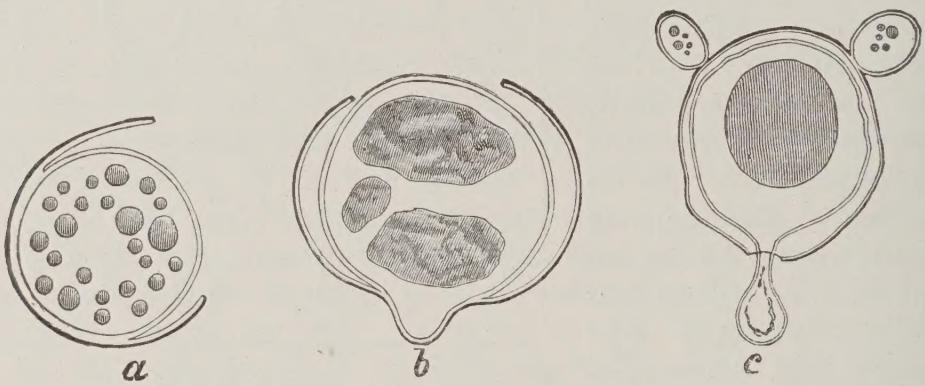


Fig. 80.

Die Zellmembran der Hefen wird von den meisten Anilinfarbstoffen nur äußerst schwierig und wenig gefärbt. Nur wenige, besonders zubereitete Farbflotten machen in dieser Hinsicht eine Ausnahme.

Beim Untersuchen der Hefe im ungefärbten und noch besser in gefärbten Präparaten macht man häufig die Beobachtung, daß zwischen den Zellen eine Masse ausgebreitet ist, die dieselben wie ein Netzwerk umschließt. Die Substanz dieser Netzbildungen stammt entweder als schleimige Ausscheidung aus dem Zellinnern oder geht auf die verschleimten Zellwände zurück. Außerdem finden sich in derselben noch zahlreiche Einlagerungen aus der Nährflüssigkeit. Das „gelatinöse Netzwerk" Hansens ist wohl in erster Linie auf eine Verschleimung der äußeren Zellhautpartien zurückzuführen. Nach den Beobachtungen von Will müssen die Netzbildungen, welche die Dauerzellen einschließen, ohne weiteres sichtbar sind und keine Eiweißreaktionen geben, von denjenigen aus älteren schleimigen Kahmhäuten unterschieden werden, welche erst nach einer besonderen Präparation sichtbar werden und alle Eiweißreaktionen liefern. Hier sind auch noch jene häutigen Ausscheidungen zu nennen, welche an der Würzeoberfläche auftreten und in der Umgebung von Hefezellen ebenfalls Netzform annehmen, und endlich das „kristallinische Netzwerk". Diese Netzbildungen kommen ebenfalls entweder durch Verschleimung der Zellwände allein zustande

oder unter Hinzutritt von schleimigen Ausscheidungen aus dem Zellinnern, abgesehen von den Einlagerungen in dieselben aus dem Kulturmedium. Ausgedehntere Verschleimungen der Zellwände finden sich auch an den Zellen der Riesenkolonien von Hefen, die sich im Innern derselben befinden.

Eine klebrige Beschaffenheit der Zellwände, die zu Flockenbildungen führt, beobachtet man jederzeit an den untergängigen Hefen, für die sie geradezu als charakteristisch gilt.

2. Zellsaftvakuolen.

In der Hefezelle findet man stets Vakuolen. Häufig beobachtet man eine zentral gelegene große Vakuole und daneben kleinere Safträume in größerer Anzahl. Gegen das wabig oder schwammig erscheinende Protoplasma sind die Safträume scharf abgegrenzt. Sie enthalten eine klare, mäßig lichtbrechende Flüssigkeit, in der häufig kleine kugelige oder seltener eckige Einschlüsse in mehr oder minder großer Zahl auftreten und sich darin lebhaft bewegen. Die Vakuolenwand wird von einer schmalen, hyalinen Plasmazone gebildet.

Neben den genannten Zellsaftvakuolen finden sich dann noch Hohlräume im Plasma, die zur Speicherung besonderer Reservestoffe, insonderheit des Glykogens, dienen. Die Form dieser Glykogenvakuolen ist entweder kugelig oder scheibenförmig, bohnenförmig oder ellipsoidisch. In diesen Vakuolen kann man außer dem Reservestoff keine anderen Einschlüsse wahrnehmen.

3. Organische Reservestoffe.

Wie bei den Bakterien spielen auch bei den Hefezellen die organischen Reservestoffe im Haushalt dieser Zellen eine wesentliche Rolle. Die Hefezelle enthält eine Fülle sich in färberischer Hinsicht als different erweisender Einschlüsse organischer Natur. Eine strenge Auseinanderhaltung derselben als Reservestoffe und als von der Zelle exkretorisch abgeschiedener Abfallstoffe ist nicht in allen Fällen möglich. Dies gilt ganz besonders für die sogenannten metachromatischen Körnchen, die auch bei den Hefezellen wohl sehr verschiedener Natur sind. Die gesamten genauer bekannten organischen Reservestoffe kann man in zwei Gruppen einteilen, in die der stickstoffhaltigen und in die der stickstofffreien.

a) Stickstoffhaltige Reservestoffe.

Solche sind in der Hefe jedenfalls reichlich vorhanden. Ein großer Teil der sogenannten metachromatischen Körperchen, die entweder im Zytoplasma eingestreut liegen oder sich in der Vakuolenflüssigkeit befinden, dürften N-haltige Reservestoffe sein. Vielfach treten die stickstoffhaltigen Reservestoffe auch als Kristalloide auf. Selbst der ruhende Hefezellkern enthält ein Kristalloid, welches jedenfalls auch als Reservestoff aufzufassen ist. In den Hefezellen kann man sozusagen in jedem Entwicklungszustand Volutin nachweisen, dessen genauere Beschreibung bereits bei den Bakterien gegeben worden ist. Als Eiweißkristalloide kleinsten Formates kann man mit Kohl stark lichtbrechende, farblose Körnchen auffassen, die man Mikrosomen oder paraplasmatische Gebilde genannt hatte. Dieselben treten im Protoplasma oft

massenhaft auf, mitunter finden sie sich in sehr geringer Zahl. Kohl hält sie mit Recht auf Grund zahlreicher Reaktionen und färberischer Erscheinungen für „Eiweißkristalle", „die sich den Cyanophycinkörnern der Cyanophyceen direkt an die Seite stellen".

b) Stickstofffreie Reservestoffe.

Die wichtigsten geformten stickstofffreien Reservestoffe sind das Glykogen und das Fett.

1. Glykogen.

Das Hefeglykogen unterscheidet sich nicht wesentlich vom Bakterienglykogen. Es wird bei lebhafter Gärung und Vermehrung der Hefe reichlich gebildet und in Vakuolen, den früher genannten Glyko-

Schema der vegetativen Hefezelle.

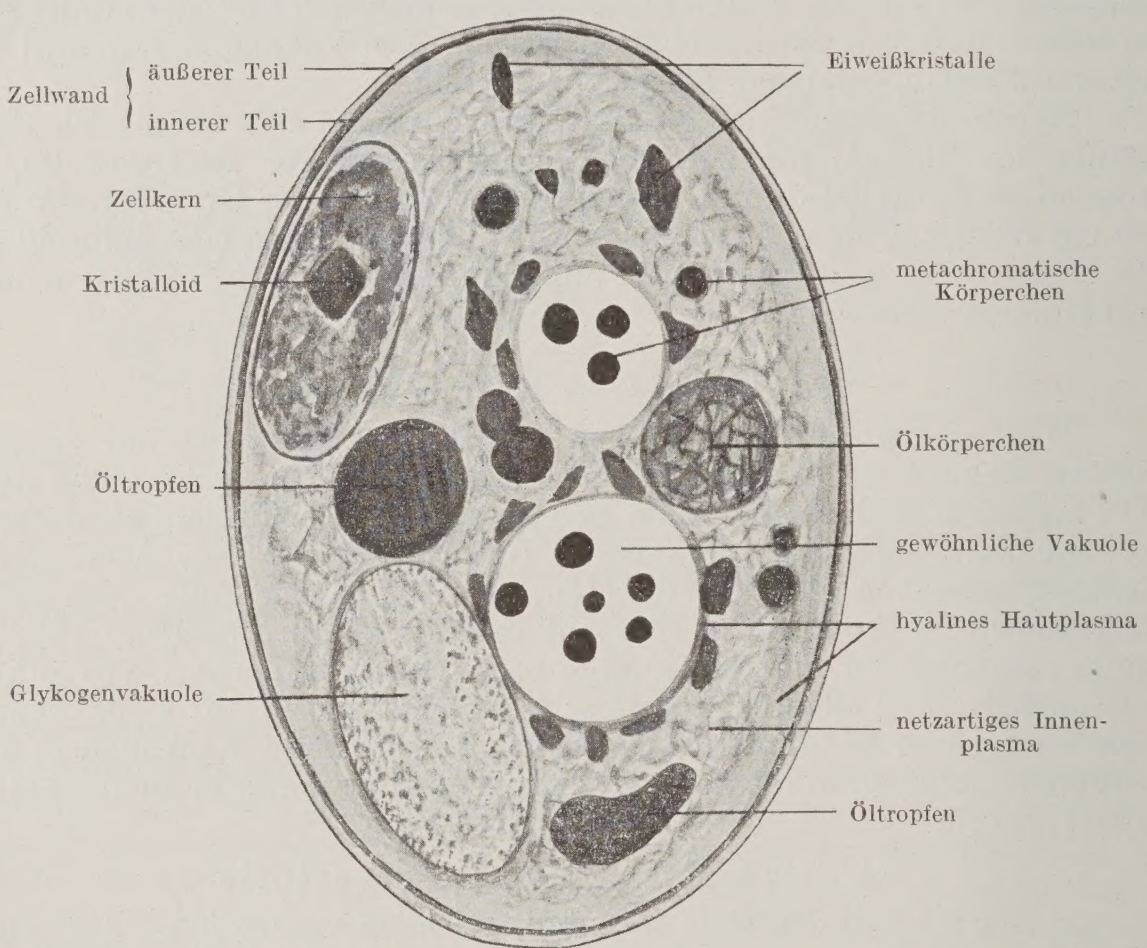


Fig. 81.

genvakuolen, gespeichert. Bei starker Vergrößerung ohne vorausgehende Jodbehandlung gleicht das Glykogen in den Vakuolen einer außerordentlich fein gekörnten Masse, die mitunter schollig aufgeteilt erscheint.

2. Hefefett.

Bei freiem Zutritt des Sauerstoffes der Luft und bei nicht allzu tiefer Züchtungstemperatur erzeugt die Hefe reichlich Fett, welches sich im Plasma in Form von größeren und kleineren Kügelchen ablagert.

Bei alternden Hefezellen beobachtet man eine fettige Degeneration des Plasmas, so daß die Fettkügelchen die Zelle fast vollständig erfüllen. Solche Zellen sterben meist in der kürzesten Zeit ab. Das in den Zellen abgelagerte Hefefett weist häufig auch andere Gestalten auf, wie Hantelform, ausgesprochene Tropfenform und biskuitförmige Massen. In der toten Hefezelle fließen die gesamten Fetttröpfchen zu einem einzigen großen Fetttropfen zusammen. Nach Will hat man nun zweierlei Arten von fettigen Gebilden der Hefezelle zu unterscheiden, „Ölkörperchen" und „Öltröpfchen". Erstere bestehen aus einer eiweißartigen Grundsubstanz, die von dem Fettstoff durchsetzt ist, während die Öltröpfchen keine solche eiweißartige Grundlage besitzen.

Um einen Überblick über die wichtigsten morphologischen Einzelheiten der vegetativen Hefezellen zu geben, ist in Figur 81 ein Schema derselben entworfen.

D. Vermehrung und Wuchsverbände der Hefezellen.

Die vegetative Hefezelle vermehrt sich typisch durch die Sprossung, wie es kurz vorher bereits geschildert worden ist. Dabei treibt die Mutterzelle entweder nur einen Sproß oder aber es bilden sich solche rings um die Zelle. Den ersteren Fall sieht man in der Regel bei den Zellen des Bodensatzes in Flüssigkeiten und auch beim Wachstum auf festen oder gallertigen Nährsubstanzen. In Figur 82[1]) sehen wir Zellen der Bodensatzhefe aus einer Zucht in Würze einer Bierunterhefe. Die Zellen tragen eine, höchstens zwei Knospen. Die Sprossung der Zellen in einer Hefehaut an der Oberfläche der Flüssigkeit erfolgt vielfach rings um die Mutterzelle. Nach Will verläuft der Vorgang so, daß sich zuerst bei der Bildung des durch schwimmende Eiweißflöckchen und Reste der Kräusenbestandteile auf der Oberfläche schwebend erhaltenen Hefeinselchens die Zellen nur im Anfange je einen Sproß bilden, wie die Zellen der Bodensatzhefe. Bei den späteren Generationen umgeben sich die Mutterzellen aber mit sehr zahlreichen Sprossen von mehr länglicher oder wurstförmiger Gestalt, die wieder reichlich Sprossen

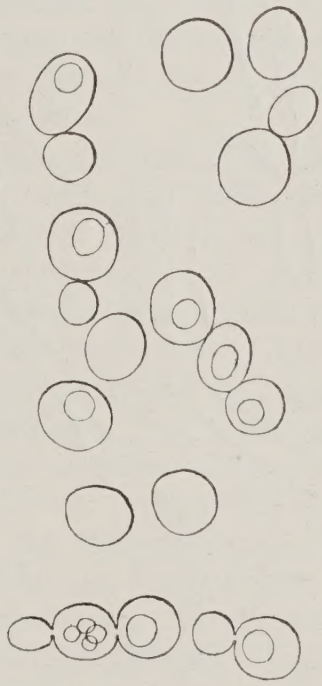


Fig. 82.

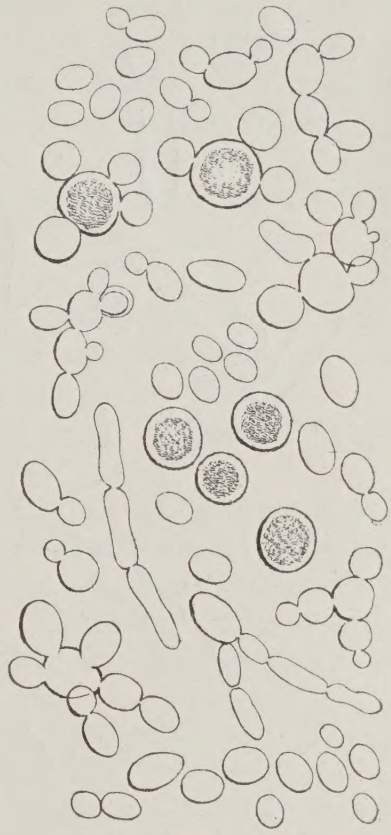


Fig. 83.

1) Figuren 82, 83 und 84 sind dem Lafarschen Handbuch der technischen Mykologie, Bd. IV. S. 17 und 19 entnommen.

derselben Form treiben. Die Tochter- und Enkelzellen bleiben alle aneinander hängen. Nach Will ist dies die erste Generation der echten **Hautzellen**, wie sie in Figur 83 wiedergegeben ist. Diese beginnende Vegetationshaut enthält aber noch anders organisierte Zellen, die eine vielfach dickere Zellmembran aufweisen und reichlich Glykogen und Fett speichern. Sie sind die Dauerzellen im vollen Sinne des Wortes. Diese Zellen erhalten sich am längsten am Leben und treiben langgestreckte, schlauchförmige Tochterzellen hervor, die wieder Sprossen derselben Form erzeugen. Dadurch entstehen reiche Flechtwerke und

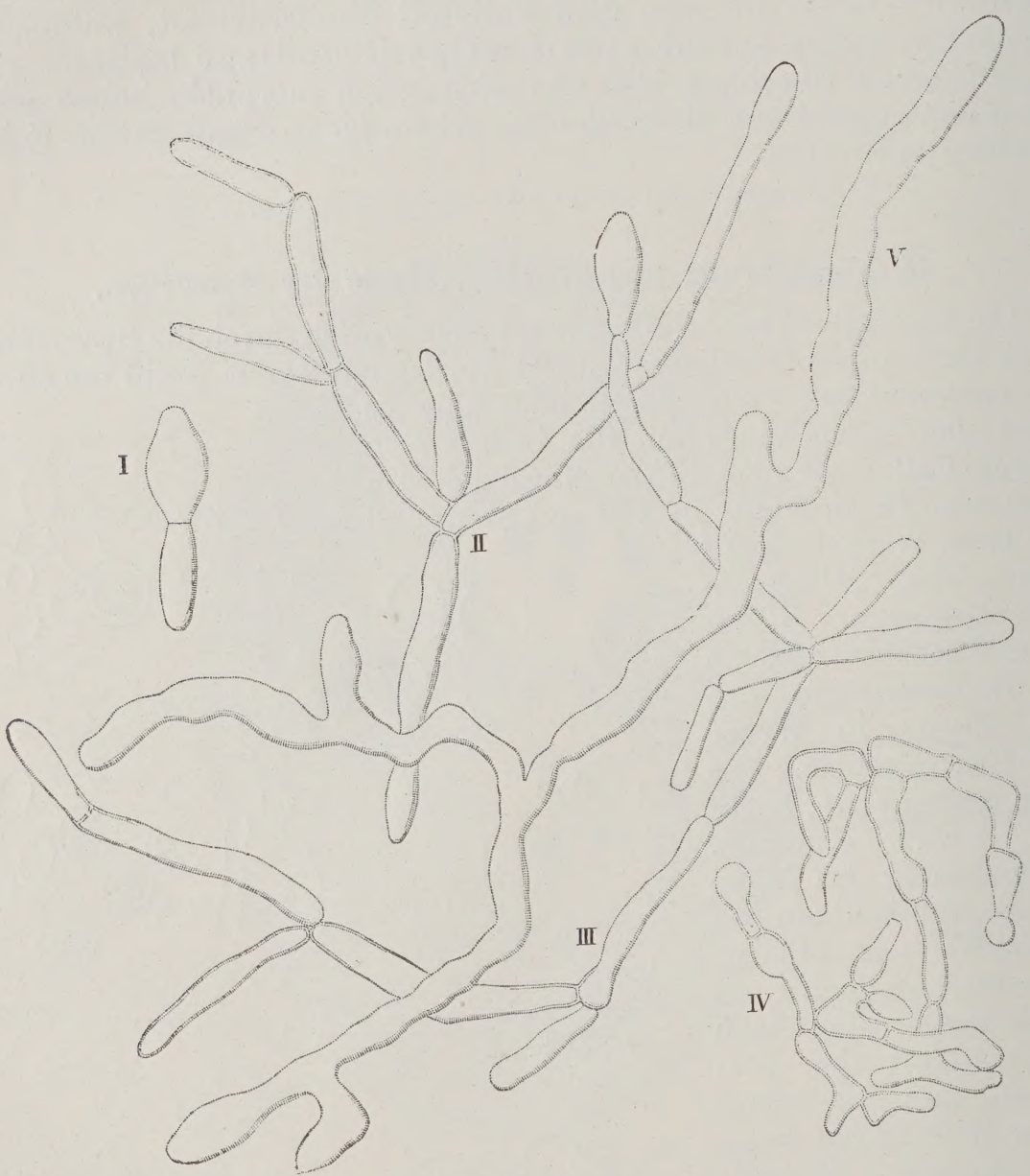


Fig. 84.

wohlgegliederte Wuchsverbände, was besonders für den sogenannten Hefering gilt. Will bezeichnet diese Zellen als Hautzellen zweiter Generation. Dieselben sind im späteren Entwicklungsstadium auch dadurch gekennzeichnet, daß mehr oder minder häufig in den verlängerten Zellen Querwände eingefügt sind.

Eine andere bei einzelnen Hefearten auftretende Entwicklungsform ist die Mycelbildung, wie sie zuerst E. Chr. Hansen bei Saccharomycodes Ludwigii beobachtet hat. Figur 84 zeigt die Erscheinung

bei 1000facher Vergrößerung nach Hansen. Als Nährsubstrat diente Kirschensaft und Hefewasser. *I* dieser Figur zeigt den wurstförmigen Sproß, der bereits durch eine Querwand von der zitronenförmigen Mutterzelle getrennt ist. *II* bis *IV* läßt vielfach verzweigte Mycelien erkennen, die sehr gut ausgebildete Querwände zeigen, während *V* einer Mycelzelle entspricht, die keine Querwand besitzt.

Bei der Zucht von Hefen auf der Oberfläche von Gallerten, wie Würgegelatine, entstehen Wuchsverbände, die man als Hefekolonien bezeichnet. Ähnliche Koloniebildungen entstehen auch auf festen und entsprechend feuchten Nährsubstraten, wie Schnittflächen von Früchten u. dgl. Die Form der von den einzelnen Hefearten unter möglichst gleichen äußeren Bedingungen erzeugten Kolonien ist verschieden und kann mit anderen morphologischen Eigenschaften als wertvolles Artunterscheidungsmerkmal verwendet werden. Nach Wills eingehenden vergleichenden Untersuchungen beeinflussen folgende Faktoren ganz besonders die Kolonieformen: Vor allem ist es nicht gleichgültig, in welchem Entwicklungszustand sich die zur Aussaat kommenden Zellen befinden. Ähnlich wie bei der Hautbildung müssen sich auch hier die echten Hautzellen in ihren Teilungserscheinungen anders verhalten als Bodensatzzellen. Rings um die Mutterzelle sprossende Hefen werden dadurch das Gesamtbild der Kolonie entsprechend beeinflussen. In dieser Hinsicht findet auch eine Rückwirkung des Nährbodens statt, in dem die zur Aussaat genommenen Zellen gezüchtet worden sind. Auch die chemische und physikalische Beschaffenheit des festen Nährsubstrates wirkt auf die Koloniebildung ein, ebenso die Temperatur, die Dicke der Gelatineschicht und damit zusammenhängend der Feuchtigkeitsgrad der Gallerte. Weiter von Einfluß ist die Menge der zutretenden Luft, bzw. die Sauerstoffspannung über der Kultur.

Ähnlich dem Verhalten bei der Hautbildung ist die Erscheinung des Auftretens von verschiedenen Generationen nacheinander in den Kolonien. Will unterscheidet drei Kolonietypen der Hefen:

1. Regelmäßige Kolonien, für welche eine Linsen-, Kugel-, Halbkugel- oder Zapfengestalt charakteristisch ist.

2. Unregelmäßige Kolonien mit einem regelmäßigen Kern. Dieser regelmäßige Kern repräsentiert eigentlich für sich eine regelmäßige Kolonie, der ein unregelmäßiger Rand sozusagen angelagert ist. Diese Randbildung ist meist wohl als ein sekundärer Wachstumsprozeß anzusprechen, der mitunter wieder ausgeglichen wird, so daß nach einiger Zeit eigentlich die Form des ersten Typus vorliegt.

3. Völlig unregelmäßige Kolonien. Man sieht keinen Koloniekern und keinen ausgesprochenen Rand, wodurch die Umgrenzung des Wuchsverbandes einen unregelmäßigen Umriß erhält und sich ständig ändert. Die Kolonie erhält sozusagen eine Amöbenform.

Im wesentlichen ein konstanteres Aussehen zeigen die Riesenkolonien Lindners. Es sind Wuchsverbände auf entsprechender Nährgelatine, die sich aber nicht aus einer einzigen Zelle oder nur wenigen Zellen einer Art entwickeln, sondern aus in einem Tropfen vereinigten sehr vielen Zellen der gleichen Art. Es wird dazu ein Tropfen einer flüssigen Hefereinkultur auf die Mitte der Oberfläche einer dicken Gelatineschicht in einem entsprechend großen Kolben aufgebracht. Der Vorteil liegt eben dabei darin, daß zu gleicher Zeit in dem Tropfen, der als Aussaat

dient, die verschiedensten Entwicklungsstadien der betreffenden Hefeart vorhanden sind und somit eine Art Durchschnittsform der Kolonie erreicht wird. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird dieselbe für eine bestimmte Art eine konstantere Form aufweisen als eine Kolonie, die von einer einzigen Zelle unbekannten Entwicklungszustandes ihren Ausgang nimmt.

Interessant wäre der Versuch der Koloniebildung aus der Spore, da in derselben alle Eigenschaften der Art sozusagen in einem Ruhezustand vorhanden sind. Wenige diesbezügliche Versuche haben auch in der Tat ergeben, daß die von den Sporen einer Art ausgehenden Kolonien hinsichtlich der Form und Größe bei strenger Einhaltung aller äußeren Kulturbedingungen außerordentlich gleich sind.

---

2. Bildung, Bau und Keimung der Hefesporen.

Bei der Beschreibung des Kernes der Hefezelle wurden die während der Sporulation an demselben sich abspielenden Vorgänge bereits erörtert. Im allgemeinen ist die Sporulation bei der Hefe wie bei den Bakterien als eine freie Zellbildung aufzufassen. Die Sporen sind Endosporen und entstehen in der unmittelbar sich zur Sporenmutterzelle oder dem Askus umwandelnden vegetativen Hefezelle.

Die Sporenbildung setzt nun bei der Hefe dann ein, wenn in voller Entwicklung stehende Zellen durch äußere Bedingungen an der Sprossung verhindert werden. Wir haben uns also zwischen der Sprossung und Sporulation eine Art Kampf vorzustellen. Solange es irgend möglich ist, bleibt die Hefe bei der Vermehrung durch Sprossung. Auch ist die Neigung der einzelnen Hefearten zur Sporulation eine verschiedene. Ganz allgemein können wir sagen, daß zur Sporenbildung außer dem guten Ernährungszustand noch reichlich Sauerstoff, Feuchtigkeit und relativ hohe Temperaturen unbedingt notwendig sind.

Die zahlreichen experimentellen Untersuchungen Emil Christian Hansens über die Bedingungen der Sporenbildung bei der Hefe haben zu Ergebnissen geführt, die wir in folgenden Sätzen kurz wiedergeben können.

1. Nur junge, kräftige, gut ernährte Zellen bilden in typischer Weise ihre Sporen aus.

2. Die Sporenbildung geht nur unter Luftzutritt vonstatten, ist also ein streng aërober Prozeß, für dessen Zustandekommen eine genügende Sauerstoffmenge unerläßlich ist.

3. Die Unterlage, auf der die Zellen sich bei der Sporenbildung befinden, muß reichliche Mengen von Feuchtigkeit aufweisen.

4. Das Optimum der Temperatur für die Sporulation liegt bei den meisten Hefearten um 25° C.

5. Die Zeitdauer der Sporenbildung ist unmittelbar von der Temperatur in dem Sinne abhängig, daß dieselbe für die betreffende Art am kürzesten ist, je mehr sich die herr-

schende Tempertaur dem Optimum derselben für die Sporulation nähert.

6. Das Temperaturmaximum der Sporenbildung liegt niedriger als dasjenige der Sprossung, während das Minimum für die Sporulation höher ist als für die Sprossung.

Endlich ist gewiß ein die Sporulation wesentlich beeinflussender Faktor der Gehalt an Nährstoffen und die Art derselben im Nährsubstrat. Je kleiner der Vorrat an Nährstoffen in der Nährflüssigkeit im allgemeinen wird, desto sicherer und rascher setzt die Sporenbildung ein. Besonders günstig scheinen erfahrungsmäßig Übergänge von üppigster Ernährung zu mangelhafter zu wirken, worauf man bei den Sporulationsversuchen besonders zu achten hat. Über die Einwirkung der Art der Nährstoffe auf die Sporenbildung wissen wir noch nicht viel. Nach den vorliegenden wenigen in dieser Richtung angestellten Versuchen scheint besonders gewissen Zuckern eine günstige Beeinflussung der Sporenerzeugung zuzukommen, während andere direkt jede Sporulation unterdrücken. Am schnellsten setzt letztere bei der Anwendung von Laktose und Rhamnose als Kohlenstoffquelle in der Nährlösung ein; Saccharose und auch Maltose wirken hemmend, so daß jede Sporenproduktion bei ihrer Anwesenheit ausbleibt.

Entsprechend den eben mitgeteilten Erkenntnissen über die Bedingungen der Sporenbildung hat man eine besondere Methode der Untersuchung der Sporulation ausgearbeitet, die allen obigen Anforderungen gerecht wird und in bezug auf die Kardinalpunkte der Sporenbildung hinsichtlich der Zeitdauer und Temperatur Ergebnisse liefert, die für die Unterscheidung der Arten von größter Wichtigkeit sind.

Wir verwenden dabei Zellen, die sich in höchster Sproß- und Gärtätigkeit befinden. Deshalb überimpfen wir dieselben vor der Anlage der Sporenkultur in gut nährende und leicht vergärbare Substrate, wie frische, sterile Bierwürze, in der wir einige Tage bei Zimmertemperatur züchten. Von der in dieser Zeit gebildeten Bodensatzhefe überimpft man dann in eine neue Portion steriler Bierwürze und züchtet durch 24 Stunden bei 25° C. Die nunmehr entstandene Satzhefe wird nach vorsichtiger Entfernung der überstehenden Nährflüssigkeit auf eine für die Sporulation geeignete Unterlage gebracht. Als solche erweist sich am zweckmäßigsten der Gipsblock in der Form, wie es Figur 85 zeigt, wenn im großen gearbeitet werden soll, oder in ein Hansenkölbchen eingegossen, wie aus Figur 86 ersichtlich ist. Auf die Oberfläche der sterilen, trockenen Gipsblöcke wird von der Satzhefe nach der oben geschilderten Vorbehandlung eine Portion ausgestrichen und in das Glasgefäß eine etwa bis zur Hälfte der Blockhöhe reichende Menge sterilen Wassers eingegossen, damit der Block sich mit Wasser von unten

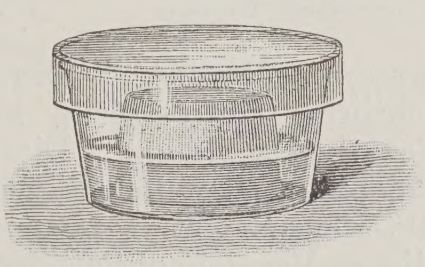


Fig. 85.

Fig. 86.

her vollsaugen kann und ständig feucht gehalten ist. Der nur lose schließende Deckel oder beim Hansenkölbchen der lockere Wattepfropf gestattet einen genügenden Luftzutritt. Unter diesen Verhältnissen tritt die Sporenbildung unter Erhaltung der geeigneten Temperaturen alsbald ein, und die erhaltenen Kardinalpunkte in bezug auf die Temperatur sind für die einzelnen Arten als sehr konstant anzusehen.

Folgendes Beispiel für die Kardinalpunkte der Temperaturen für die Sporenbildung von Saccharomyces cerevisiae nach Hansen sei hier aufgeführt:

Temperatur ° C:	Beginn der Sporulation nach:	
37,5	Keine Sporenbildung	
36—37	**29 Stunden**	**Maximum**
35,0	25 „	
33,5	23 „	
30,0	**20 „**	**Optimum**
25,0	23 „	
23,0	27 „	
17,5	50 „	
16,5	65 „	
11—12	**10 Tagen**	**Minimum**
9,0	Keine Sporulation	

Für die Sporenbildung von Saccharomyces cerevisiae ergibt sich somit ein Optimum von 30° C, ein Minimum zwischen 11 und 12° C und ein Maximum zwischen 36 und 37° C. Die Sporulationsweite erstreckt sich für diese Hefeart also von ca. 12 bis 37° C.

Die folgende kleine Zusammenstellung enthält die Kardinalpunkte der Sporulationstemperaturen einiger gut untersuchter Hefearten.

Nr.	Hefeart	Temperatur —		
		Minimum	Optimum	Maximum
1	Saccharomyces Pastorianus Hansen .	0,5° C	27,5° C	31,5° C
2	Saccharomyces intermedius Hansen .	0,5° C	23,0° C	29,0° C
3	Saccharomyces ellipsoideus Hansen .	4,0° C	25,0° C	32,5° C
4	Saccharomyces turbidans Hansen . .	4,0° C	22,0° C	35,0° C
5	Willia anomala Hansen	3,5° C	30,0° C	34,0° C
6	Saccharomyces cerevisiae Hansen . .	11,5° C	30,0° C	36,5° C

Wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, bestehen bei den einzelnen Arten beträchtliche Unterschiede hinsichtlich der Temperatur-Kardinalpunkte der Sporenbildung. Diese werden noch auffallender, wenn man diese Ergebnisse graphisch in der Weise darzustellen versucht, wie es für die Bakteriensporulation im ersten Abschnitt geschehen ist. In Figur 87 ist dieser Versuch durchgeführt. Die rechts beigesetzten Zahlen 1—6 beziehen sich auf die Nummern obenstehender Zusammenstellung.

Bei zahlreichen Hefearten gelingt es mehr oder weniger leicht, durch fortgesetzte Züchtung über dem Temperaturoptimum und auch durch andere äußere Einflüsse die Fähigkeit der Sporenbildung überhaupt zu unterdrücken. Hat auf diese Weise eine Hefeart ihr Sporulationsvermögen eingebüßt, so gelingt es selbst durch weitere Umzüch-

tungen unter möglichst günstigen Bedingungen nicht, sie wieder zur Sporenbildung anzuregen. Die weiteren Generationen dieser Art haben anscheinend dauernd das Sporenbildungsvermögen verloren. In diesem

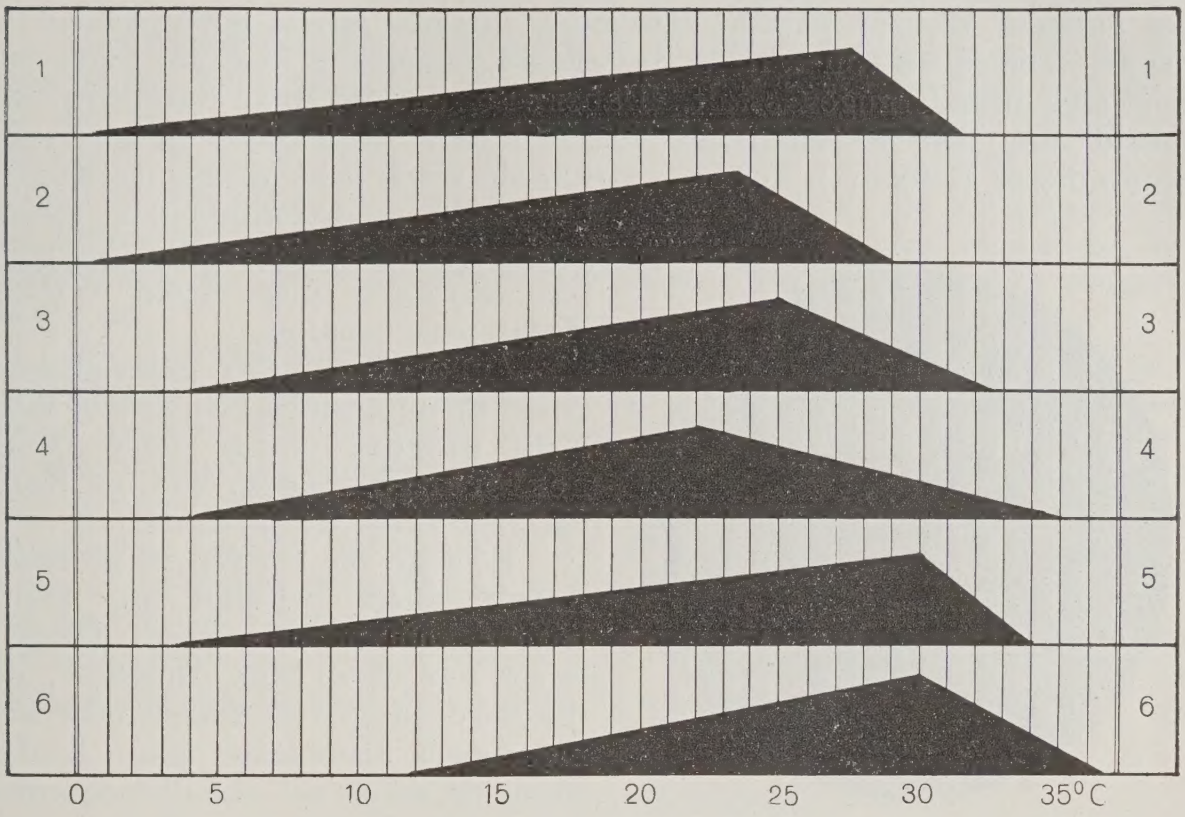


Fig. 87.

Falle spricht man von asporogenen Rassen einer Hefeart. Ob die so herausgebildete Asporogenie als eine neue, angezüchtete, erbliche und weiterhin konstante Eigenschaft aufzufassen ist, sei einstweilen dahingestellt.

A. Bau der Hefespore.

1. Form der Sporen.

Die Form der Sporen ist meist rund oder leicht elliptisch. Bei einigen Arten beobachtet man aber auch anders geformte Sporen, die für diese Spezies äußerst charakteristisch sind. In der Figur 88 sind die am meisten vorkommenden Sporenformen sehr stark vergrößert abgebildet. *A* dieser Figur entspricht der Kugelform der Sporen, *B* der schwach elliptischen und *D* der doppelt behäuteten Spore von Saccharomycopsis guttulatus. Die Oberfläche der Sporen von Willia anomala hat eine

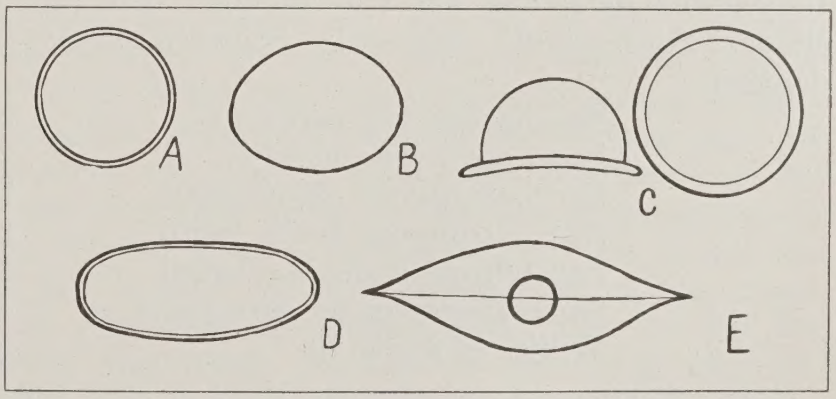


Fig. 88.

einseitige Abflachung mit vorspringender Kante, wie es *C* der Figur 88 links in der Seitenansicht zeigt. Dadurch kommt die hutförmige Gestalt der Sporen dieser Art zustande. Von unten oder oben senkrecht auf die Abflachung gesehen, gewahrt man im optischen Schnitt nur einen der äußeren Kontur parallel laufenden inneren Kreis, entsprechend *C* rechts. Die Spore von Willia Saturnus, abgebildet in *E* der Figur 88, zeigt eine linsenförmige Gestalt. Daher erscheint die Mitte stark erhaben, sobald man eine Seitenansicht vor sich hat. Außerdem enthält jede Spore dieser Hefeart in ihrem Zentrum ein stark lichtbrechendes Kügelchen. Wegen der Ähnlichkeit dieser Sporen mit den Saturnabbildungen hat Klöcker diese Hefe Willia Saturnus benannt.

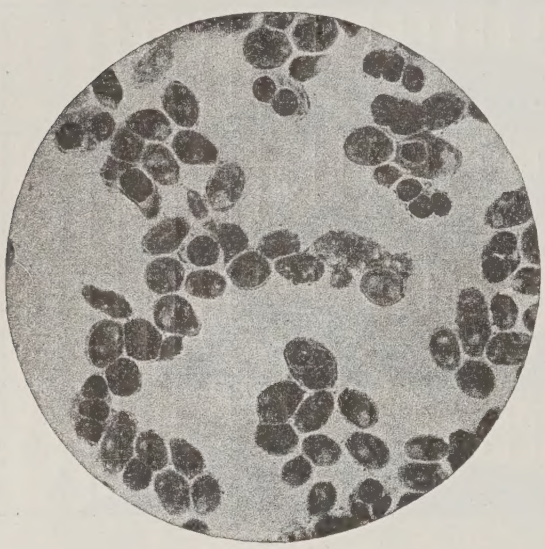


Fig. 89.

Außer den bisher gekennzeichneten Sporenformen beobachtet man auch nierenförmige oder bohnenförmige Sporen, wie bei Saccharomyces Marxianus.

Solange die Sporen in größerer Anzahl dicht gedrängt im Askus liegen, kommt ihre reine Gestalt meist schlechter zum Ausdruck, da die Berührungsstellen mehr oder weniger stark abgeplattet sind. In der Figur 89 sehen wir ein Photogramm von sporentragenden Zellen von Saccharomyces ellipsoideus wiedergegeben. Die dunklen Stellen entsprechen den Sporen, während das Epiplasma nur sehr wenig sichtbar ist. An den Sporen, die der Länge nach zu dritt im Sporangium liegen, sieht man die Abplattungen an den Berührungsstellen gut, während in den Sporenmutterzellen, die nur wenige Sporen enthalten oder in denen sie locker liegen, die kugelige Gestalt derselben zur Beobachtung gelangt.

2. Größe der Sporen.

Die **Größe der Sporen** ist nun bei den einzelnen Arten und den Individuen derselben Art verschieden. Die folgende Zusammenstellung einiger Sporenmaße zeigt die Schwankungen der Sporengrößen sehr deutlich.

Saccharomyces cerevisiae	2,5—6 μ
Saccharomyces validus	2 —5 μ
Saccharomyces ellipsoideus . . .	2 —4 μ
Saccharomyces Soya Saito . . .	2,7—4,5 μ
Saccharomycodes Ludwigii . . .	3 —4 μ
Saccharomycopsis capsularis . . .	3,5—8 μ
Willia anomala [1]	2 —3 μ

Die Größenunterschiede der Sporen zweier verschiedener Arten sind meist nicht so groß wie diejenigen der Sporen einer Art, weshalb die

1) Ohne Leiste gemessen.

Sporengröße für die Unterscheidung der Arten nur in den seltensten Fällen verwertet werden kann.

3. Feinerer Bau der Sporen.

Der **feinere Bau der Hefesporen** ist in vielen Beziehungen jenem der vegetativen Zelle ähnlich. Die Spore ist von einer Membran umgeben, die den Sporeninhalt lückenlos einschließt. Nur in wenigen Fällen, wie bei der Gattung Saccharomycopsis, ist der Sporeninhalt von zwei Membranen umgeben, von denen die äußere auch als Exosporium, die innere als Endosporium bezeichnet wird. Ersteres nimmt bei der Behandlung mit Schwefelsäure und anderen Mineralsäuren eine rosarote Farbe an.

Der Sporeninhalt besteht aus einem Protoplasma, einem Kern und einigen anderen geformten Einschlüssen. Das Plasma hat eine etwas dichtere Beschaffenheit und ist von kleinen Vakuolen durchsetzt. Es sieht besonders in gefärbtem Zustande wie gekammert aus. Der meist sehr kleine, exzentrisch in der Spore liegende Kern sendet eine Art von Plasmastrahlen aus, die eben das gekammerte Aussehen des Sporenplasmas bedingen, da sie radiär im Plasma verlaufen. Im Plasma finden wir gewöhnlich Granula, die sich mit Überosmiumsäure schwärzen und wahrscheinlich fettartiger Natur sind. Mitunter gelingt es auch, in kleinen Plasmabezirken der Sporen Glykogen nachzuweisen.

B. Keimung der Hefesporen.

Die fertigen Sporen bleiben meist in der Sporenmutterzelle, dem Askus, bis zur Keimung eingeschlossen. Sobald dieselben in ein geeignetes Nährsubstrat gelangen und dabei unter günstigen äußeren Bedingungen gehalten sind, setzt die Keimung ein. Dieselbe erfolgt im allgemeinen nach zwei Typen. Entweder sprossen die vegetativen Hefezellen aus der Spore hervor (Keimung durch Sprossung) oder es kommt zuerst zur Ausbildung eines Keimschlauches, des Promycels, von dem die vegetativen Hefezellen durch Querwandbildung abgespalten werden.

1. Keimung durch Sprossung.

Die Sporenkeimung setzt nun damit ein, daß die in der Sporenmutterzelle ruhenden Sporen durch Wasseraufnahme erheblich aufquellen und so im Askus zu einer Drucksteigerung führen, die den Anlaß zu sehr starken Deformationen der Mutterzelle und der Sporen selbst gibt. Zwischen die Sporen eingepreßt befindet sich das früher genannte Restplasma oder Epiplasma, so daß eine Kammerung der Mutterzelle vorgetäuscht werden kann. Inzwischen ist die Wand des Askus weicher geworden und beginnt zu verschleimen und sich zu lösen. Häufig kommt es auch zu Einrissen. Jedenfalls spielt aber bei der Befreiung der Sporen aus der Mutterzelle die Lösung der Mutterzellwand die wichtigste Rolle. Die nunmehr freien, in Keimung befindlichen Sporen treiben Sprosse, wobei die Vorgänge am Kern und Plasma jenen bei der gewöhnlichen Sproßvermehrung gleich verlaufen. Wenn zwei Sporenhäute vorhanden sind, wird das Exosporium an einer bekannten

Stelle, die für die Art konstant ist, zuerst eingerissen, und dann findet erst die gewöhnliche Keimung durch Sprossung statt. In seltenen Fällen beobachtete man auch, daß die Sproßbildung der Spore noch innerhalb der Mutterzelle einsetzt.

In folgender Figur 90 sind einige Stadien der Sporenkeimung schematisch wiedergegeben, die durch Sproßbildung verläuft. *A* zeigt uns einen Askus von Saccharomyces cerevisiae, in dem sich drei freie Sporen in Ruhe befinden. Sobald dieselben zu keimen beginnen, schwellen sie an und erfüllen allmählich den ganzen Inhalt des Sporangiums, das selbst sehr gedehnt und deformiert wird, wie es *B* und *C* der Figur zeigen. In *D* sind die Sporen bereits aus der Sporenmutterzelle befreit, und die Membran der letzteren ist noch als anliegender Rest zu sehen. An den Sporen sind bereits Sprosse aufgetreten, die sich dann weiter als sprossende Hefezellen vermehren (*E*). *F* bis *I* dieser Figur zeigen uns die Verhältnisse der Sporenkeimung bei doppelter

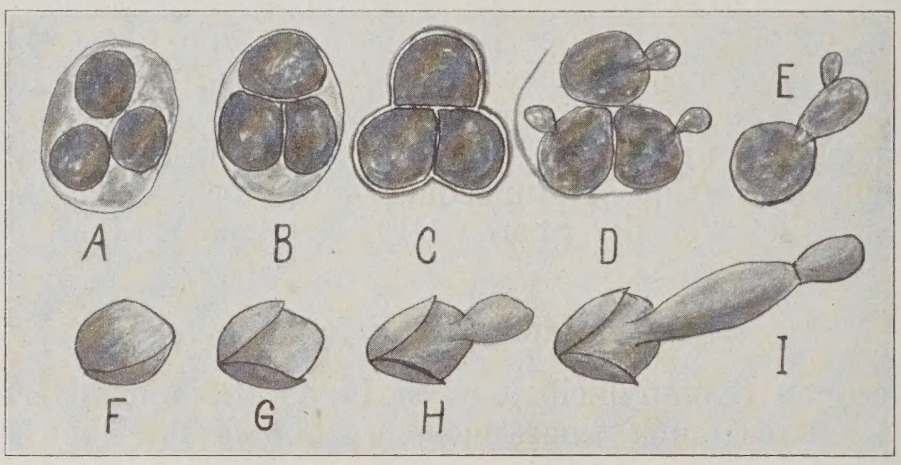


Fig. 90.

Sporenmembran an Saccharomycopsis capsularis Schiönning. *F* entspricht der reifen, freien Spore. In *G* hat sich das Exosporium gespalten, und die quellende, in Keimung befindliche Spore schiebt beide Teile, die noch zusammenhängen, auseinander. *H* und *J* lassen die Sproßbildung an der Spore erkennen, die an den Sproßstellen nur mehr mit dem Endosporium bekleidet ist.

Mitunter beobachtet man auch eine Verwachsung zweier, dicht aneinander gepreßter Sporen, wobei die Sporenwände beider Zellen an der Berührungsstelle zur Auflösung gelangen.

Nach diesem Typus der Keimung durch Sprossung keimen wohl alle bei der Weinbereitung, Brauerei und Brennerei in Verwendung stehenden Hefen.

2. Keimung mit Promycelbildung.

Bei dieser Art von Keimung wird von der Hefespore zuerst ein Promycel oder Keimschlauch gebildet. In diesem Falle tritt besonders häufig eine Verschmelzung von zwei oder auch drei Keimschlauchanlagen bei der Keimung auf. Das fertige Promycel wird erst aus diesen verschmolzenen Anlagen gebildet. Für Saccharomycodes Ludwigii und einige andere Hefen gilt die Keimschlauchver-

schmelzung geradezu als Norm. In Figur 91 ist diese Art von Keimung unter Verschmelzung von zwei Keimschlauchanlagen für Saccharomycodes Ludwigii nach Hansen wiedergegeben. Wir sehen hier in *a* zwei reife, freie und in Keimung befindliche Sporen nebeneinanderliegen. Die Berührungsstellen beider Zellen platten sich gegenseitig ab, die Zellwände werden dünner und schließlich treiben beide Zellen einander zugekehrt zwei kleine Ausstülpungen hervor, wie es *b* der Figur 91 zeigt. Diese beiden Keimschlauchanlagen verschmelzen nun miteinander (*c*) und bilden gemeinsam das Promycel aus (*d*). Unter der Promycelspitze setzt nun eine schwache Einschnürung ein, wie es *e* der Figur 91 wiedergibt. An dieser Stelle bildet sich die Querwand entsprechend *f* aus, wodurch die erste Sproßzelle abgespalten wird, was uns *g* der Figur 91 zeigt. Die junge Sproßzelle nimmt dann alsbald die für Saccharo-

Fig. 91.

mycodes Ludwigii typische Zitronenform an. In der Folge wächst das Promycel weiter und schnürt noch einige Sproßzellen ab, entsprechend *h* der Figur 91.

Wenn das Promycel auch nur von einer Spore als Zwischenglied zwischen ihr und der Sproßzelle zur Ausbildung gebracht wird, so findet die Querwandbildung und Abspaltung der Sproßzellen ebenfalls in der oben geschilderten Weise statt.

Übrigens können wir auch bei der ersten Art der Keimung, die ohne Entfaltung eines Promycels statthat, häufig eine Verschmelzung zweier Sporen vor der Keimung beobachten. Es handelt sich auch hier um eine echte Zellverschmelzung, da dabei aus zwei oder mehreren Sporen eine Zelle entsteht, die Sprossen treibt. Allerdings verschmelzen hier die Sporen selbst, während bei der zweiten Art von Keimung mit Promycelbildung die jungen Keimschläuche eine Verschmelzung eingehen und eine neue Zelle bilden, aus der durch Spaltung die Sproßzellen hervorgehen.

3. Chemie der Hefezelle.

Bezüglich der Chemie der Hefezelle kann ganz allgemein gesagt werden, daß die Hefen im wesentlichen aus denselben Elementen aufgebaut sind wie die Bakterien. In bezug auf die Menge der einzelnen Verbindungen finden wir auch hier große Schwankungen, die in erster Linie vom Zustand der Zellen, dem Alter derselben und dem Nährsubstrat, auf dem sie wachsen, abhängen.

A. Wassergehalt der Hefe.

Der Wassergehalt der Hefezellen ist im allgemeinen niedriger als derjenige der Bakterien. Im Mittel kann er mit ca. 70% angenommen werden. Die Analysen von Nicolle und Alilaire ergaben für den Wassergehalt der Hefe Frohberg 69,2%. Der Wassergehalt unterliegt Schwankungen, die auf den physiologischen Zustand der Zellen, ihr Alter und ihren Entwicklungszustand zurückzuführen sind. Jugendliche Sproßzellen sind im allgemeinen wasserreicher als ältere, sporulierende Zellen oder sogenannte Dauerzellen des Heferinges. Je größer die Menge der gespeicherten Reservestoffe ist, insbesondere des Fettes, um so geringer ist der Wassergehalt. Zwischen dem Wassergehalt der vegetativen Hefezelle und den Sporen der Hefe besteht kein nennenswerter Unterschied.

B. Aschengehalt der Hefezelle.

Der Aschengehalt der Hefen ist ebenfalls schwankend und von dem Aschengehalt des Nährsubstrates und anderen Bedingungen stark beeinflußt. Die meisten Bestimmungen des Aschengehaltes beziehen sich auf ein Material, das keineswegs aus Hefezellen allein besteht, da es sich dabei in erster Linie um Betriebshefen und Preßhefen handelt. Der sich nach der Hauptgärung in der untergärigen Brauerei im Jungbier zu Boden setzende Niederschlag, kurz „Satzhefe" genannt, wird nicht allein von Hefezellen gebildet, sondern schließt noch eine Reihe anderer Stoffe ein, von denen einige sehr aschereich sind, wie die Eiweißstoffe aus der Würze, welche bei der Gärung ausfallen, und besonders oxalsaurer Kalk. Vielfach wurden vor der Aschenbestimmung die Hefen auch gründlich gewaschen, was abermals zu Fehlern führen muß, da bei einer derartigen Reinigung gewiß eine nicht unbeträchtliche Menge von Aschebestandteilen aus den Zellen in Lösung geht. Dabei ergeben sich dann zu niedrige Zahlen.

Die folgenden Beispiele von Aschenbestimmungen von Ober- und Unterhefe werden die großen Schwankungen in der Aschenmenge, die gewiß zum Teil auf die Methodik und das Material zurückgehen, erkennen lassen.

In Prozenten des Trockenrückstandes ausgedrückt beträgt der Aschengehalt von:

Unterhefe:	3,50—5,30—7,61—7,70— 8,07—10,10
Oberhefe:	2,50—5,50—7,65—8,90—11,50

Die Zusammensetzung der Asche selbst weist ebenfalls große Schwankungen auf, wie sofort aus der Zusammenstellung von Ad. Mayer hervor-

geht, nach der dieselbe in Prozenten der Asche für die verschiedenen Bestandteile folgende Werte aufweist:

Phosphorsäure	51,0 —59,0 %
Kali	28,0 —40,0 %
Natron	0,5 — 1,9 %
Magnesia	4,0 — 8,1 %
Kalk	1,0 — 4,5 %
Kieselsäure	0,0 — 1,6 %
Eisenoxyd	0,1 — 0,34% [1]
Schwefelsäure	0,6 — 6,0 %
Chlor	0,03— 1,0 %.

Wir sehen daraus, daß die Hauptmenge der Hefenasche Phosphorsäure ausmacht, dann folgt Kali und in größerem Abstande mit einer immerhin noch beträchtlichen Menge Magnesia, während die anderen Verbindungen nur in geringen Quantitäten vorhanden sind. Dann finden sich noch häufig in Spuren Mangan und Aluminium.

Daß auf die Zusammensetzung der Hefeasche der Nährboden einen beträchtlichen Einfluß ausübt, kann daraus geschlossen werden, daß die Analysenergebnisse von Betriebshefen, die auf vegetabilischen Nährsubstraten gezüchtet werden, andere sind als die von Hefen, die vornehmlich auf animalischen Nährsubstanzen wachsen. Als Beispiel für letzteren Fall sollen die Angaben über die Zusammensetzung der Asche der Soorhefe hier wiedergegeben werden.

Danach besteht die Asche, in Prozenten der folgenden Verbindungen berechnet, aus:

Phosphorsäure	57%
Kali	9%
Natron	19%
Magnesia	7%
Kalk	14%
Kieselsäure	2%
Chlor	0,3%

Auffallend ist das starke Zurücktreten des Kali gegenüber dem Natron, wenn wir die eben mitgeteilten Zahlen mit den früheren von Betriebshefen vergleichen. Daß die Angaben über den Schwefelgehalt bei allen Aschenanalysen zu niedrig sind oder Schwefel gänzlich vermißt wird, darf nicht wundernehmen, da infolge Vorhandenseins der großen Phosphormengen ohne Anwendung ganz besonderer Vorsichtsmaßregeln beim Veraschen beträchtliche Schwefelverluste eintreten müssen. Jedenfalls enthält die Hefezelle aber jederzeit reichlich schwefelhaltige organische Verbindungen.

---

1) Ist bei Béchamp, dem Verfertiger der Analyse, mit 7,34 angegeben, was aber ein Druckfehler sein dürfte, wie schon richtig Lafar in seiner Zusammenstellung der Hefeaschenanalysen bemerkt (vgl. Lafar, Spezielle Physiologie der Ernährung und der Vermehrung und Methodik der Reinzüchtung der Hefen. Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 4, S. 84).

C. Chemie der Hefezellwand.

Die **Zellwand der Hefe** ist in chemischer Hinsicht noch wenig untersucht, obgleich sich zahlreiche Reaktionen angegeben finden. Als sichergestellt kann wohl gelten, daß dieselbe nicht aus Zellulose besteht und keinen chitinartigen Körper enthält. Es dürfte sich dabei der Hauptmenge nach ebenfalls um Hemizellulose handeln. Ein geringer Stickstoffgehalt der Hefemembran ist nicht auszuschließen, da es nicht gelingt, die Membranstoffe stickstofffrei zu gewinnen. Noch unklarer liegen die Verhältnisse bezüglich des Hefegummis, das mit einiger Vorsicht vorläufig den Zellwandstoffen zugezählt werden soll. Es wurden übrigens verschiedene gummiartige Kohlehydrate bei einzelnen Arten von den einzelnen Untersuchern nachgewiesen, so daß möglicherweise auch Verschiedenheiten in der chemischen Zusammensetzung der Zellwand bei einzelnen Saccharomycetenarten vorliegen.

D. Chemie des Zellinneren.

Die Hefezelle enthält außer den bereits angeführten Aschebestandteilen noch beträchtliche Mengen von Stickstoff, Kohlenstoff, Sauerstoff und Wasserstoff in organischer Bindung in ihren Eiweißkörpern und Reservestoffen. Darüber geben uns Elementaranalysen einige Aufschlüsse, wie sie in der folgenden Zusammenstellung wiedergegeben sind.

Autor	Hefeart	C	H	N	O	S	P
Marcet	Bierhefe	30,5	4,5	7,6		45,4	
Dumas	Bierhefe	50,6	7,3	15,0		27,1	
Schloßberger . .	Bierhefe, obergärig	49,8	6,7	12,4	31,1	—	—
Hessenland . . .	Bierhefe, obergärig	48,6	7,1	7,8	36,6	—	—
Hessenland. . .	Bierhefe, untergärig	49,3	8,2	10,5	32,0	—	—

Das Zellinnere ist besonders reich an Eiweißkörpern und Abkömmlingen derselben. Schon die älteren Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß das Innere der Hefezelle reich an Eiweißstoffen ist und diese vornehmlich aus Proteinen, Albumin, dann Pepton und Leuzin bestehen, während sich in Spuren auch Xanthin, Guanin und Sarkin finden. Nach Schröder besteht das Hefeeiweiß aus

52,4% C, 6,9% H, 15,8% N, 0,72% S, 0,06% P und 0,14% Asche.

Nach den Untersuchungen von Stutzer kommt der Stickstoff der Hefezelle in bezug auf die Verdaulichkeit der Eiweißstoffe im Magensaft in folgender Weise zur Aufteilung:

Der Gesamtstickstoffgehalt der Hefe beträgt 8,65%; davon entfallen 5,51% auf verdauliches Eiweiß und 2,26% auf unverdauliches Nuklein, während der Rest von 0,88% in Amidkörpern und Peptonen sitzt.

Den besten Einblick in die Eiweißchemie der Hefezelle gewähren die mit dem Hefepreßsaft angestellten Analysen. Nach E. Buchner hat der frische Preßsaft eine schwachsaure Reaktion und ein spezifisches Gewicht von 1,027—1,057. Die Menge der Trockensubstanz

schwankt zwischen 8,5 und 14,3%, diejenige des Stickstoffes zwischen 0,8 und 1,4%. Der Saft enthält 0,228% Phosphor, 0,065% Schwefel und 1,3—1,8% Asche.

Nach Wroblewskis Untersuchungen enthält der Hefepreßsaft Nukleoalbumin, Globulin, Albumin, Proteosen, Peptone, Tyrosin, Leuzin, Glutaminsäure, Xanthinkörper, dann Lezithin und endlich muzinartige Körper als stickstoffhaltige Verbindungen.

Das Hefeplasma ist sehr reich an Nukleinbasen, wie Xanthin, Guanin, Adenin und Hypoxanthin, die auch quantitativ daraus bestimmt wurden. Außerdem konnte aus dem Hefenuklein auch Cytosin und Uracil, die Muttersubstanz des Thymins, dargestellt werden.

Meisenheimer versuchte eine Aufteilung des Gesamtstickstoffes der Hefe auf vier Gruppen von Verbindungen, und zwar den Ammoniumstickstoff mit 8% auf die Säureamidgruppen, den Stickstoff der Purin- und Pyriminbasen mit 12% (Guanin, Adenin, Cytosin, Uracil), den Stickstoff der Diaminosäuren mit 20% (Hystidin, Arginin, Lysin) und endlich den Stickstoff der Monaminosäuren mit 60% (Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Prolin, Phenylalanin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin, Tryptophan, Chlorin, Glukosamin, Cystin).

Von den stickstofffreien Inhaltsstoffen sei hier besonders auf das Hefefett und das Glykogen hingewiesen.

Neben den Eiweißkörpern enthält das Hefeplasma noch eine Reihe stickstofffreier Verbindungen, deren Menge und Art großen Schwankungen unterliegt.

Die Hefe enthält unter gewissen Ernährungsbedingungen und in bestimmten Entwicklungsstadien große Mengen von **Fett**. Nach vorliegenden Untersuchungen soll das Hefefett aus einem Gemisch von ungefähr gleichen Teilen Stearin- und Palmitinsäure bestehen, dem noch ein wenig Buttersäure beigesellt ist. Andere Untersuchungen ergaben die Anwesenheit von drei verschiedenen Fettsäuren, mit 12, 15 und 18 Kohlenstoffatomen. Zuerst sei jene mit 12 Kohlenstoffatomen kurz charakterisiert. Diese ungesättigte Säure von der Formel $C_{12}H_{22}O_2$ addiert Brom und gibt ein lösliches Bleisalz. Die andere Säure von der Formel $C_{18}H_{34}O_2$, welche möglicherweise mit Ölsäure identisch ist und ebenfalls ein lösliches Bleisalz gibt, siedet bei 12 mm Druck zwischen 210 und 220° C. Die dritte Säure des Hefefettes ist eine gesättigte Fettsäure von der Formel $C_{15}H_{30}O_2$ und konnte mit keiner der bisher bekannt gewordenen Säuren identifiziert werden. Sie ist in Petroläther, Methyläther und Eisessig nur wenig löslich, in Äther und Alkohol aber gut löslich. Mit Baryum und Kalzium gibt sie unlösliche Salze. Ihr Schmelzpunkt liegt bei 56° C. Neben den Fettsäuren konnte noch ein linksdrehendes, bei 159° schmelzendes Cholesterin von der Formel $C_{26}H_{43}OH + H_2O$ nachgewiesen werden. In der Hefe findet sich dann noch Lezithin in ziemlicher Menge, das sich nur schwierig vom Eiweiß trennen läßt und wahrscheinlich in der Verbindung Lezithalbumin vorhanden ist.

Weiter enthält die Hefe in gewissen Entwicklungsstadien, besonders am Schlusse der Hauptgärung, in sehr beträchtlicher Menge Glykogen, das wir schon bei den Bakterien kennen lernten.

In der Hefezelle finden wir dann eine Reihe von **Enzymen**, über die wir uns schon bei der Besprechung der Bakterienenzyme genauer orientiert haben. Hier sei nur auf einige von ihnen näher hingewiesen, die sich nur in einigen Hefearten finden, während die früher eingehend erörterten nur kurz erwähnt werden sollen. Der Übersichtlichkeit wegen wollen wir auch hier an der schon früher benutzten Gruppeneinteilung der Enzyme festhalten.

Alle Sproßpilzzellen sind reich an Proteasen oder Amidasen im weiteren Sinne Oppenheimers, worunter alle jene Enzyme zu verstehen sind, welche die CO —NH-Gruppe zu spalten vermögen. Von besonderer Bedeutung ist die Endotryptase der Hefe, die sich in Form eines Zymogens in allen Hefen findet. Wie schon der Name ausdrückt, bleibt sie zeitlebens in der Zelle eingeschlossen. Bei der Selbstvergärung alternder Hefe spielt die Endotryptase eine wesentliche Rolle. Bei der Selbstvergärung tritt in der alternden Hefezelle eine beträchtliche Abnahme des Stickstoffgehaltes unter Bildung von Alkohol und Kohlendioxyd ein, wobei lösliche Stickstoffverbindungen gebildet werden, die aus der Zelle austreten.

Durch Zertrümmerung der Membran der lebenden Zelle kann die Endotryptase aus der Zelle in wirksamem Zustande gewonnen und im dabei nach dem Buchnerschen Verfahren gewonnenen Hefepreßsaft nachgewiesen werden. Die Fähigkeit des Preßsaftes, Gelatine zu verflüssigen und Eiweiß zu verdauen, geht auf das Vorhandensein dieser Endotryptase zurück. Als wirksames Enzym kann sie auch dadurch aus der Zelle gewonnen werden, daß man die Hefe mit Chloroform tötet.

Bei der Selbstverdauung der Hefe entsteht durch die Endotryptasewirkung eine Reihe von Spaltungsprodukten, die bei den einzelnen Hefearten kleine Verschiedenheiten aufweisen. Einen Überblick gibt die untenstehende Tabelle von Schenk der bei der Selbstverdauung einiger Hefegruppen auftretenden Spaltungsprodukte.

	Obergärige Hefe	Brennereihefe	Rahmhefe
Bernsteinsäure	+	+	+
Milchsäure	nicht geprüft	+	+
Tyrosin	+	+	+
Leuzin	+	+	+
Adenin	+	+	+
Hypoxanthin	Spuren	Spuren	+
Histidin	verloren	—	—
Uracil	—	+	+
Asparaginsäure	+	+	+
Glutaminsäure	+	vielleicht Spuren	vielleicht Spuren
Arginin	+	—	—
Guanidin	+	—	—
Lysin	+	+	+
Cholin	verloren	+	+
Tetramethylendiamin	+	+	+

Neben den Tryptasen finden sich in den Hefezellen auch Peptasen, die bekanntlich Polypeptide ohne natürliche aktive Monaminosäuren und Peptone abbauen, Verbindungen, die bei der Tryptase- und Pepsinasespaltung nicht weiter zerlegt werden.

Weiters enthalten die Hefezellen Nuklease, das Enzym der Spaltung von Nukleinsäure. Die Nuklease ist ebenfalls bei der Autolyse der Hefezelle beteiligt.

Die Hefe enthält meist auch Arginase.

Außer den genannten Amidasen findet sich in der Hefe Lab oder Chymosin, welches Boullanger und auch Rapp im Hefepreßsaft nachweisen konnten.

Neben den genannten eiweißspaltenden Enzymen enthalten zahlreiche Hefearten noch Esterasen und Karbohydrasen.

Lipase, also ein fettspaltendes Enzym, findet sich in den Hefen und soll nach Dellbrück insofern von großer Bedeutung sein, als es das Hefefett bei der alkoholischen Gärung unter Bildung von Glyzerin neben Bernsteinsäure und anderen Spaltungsprodukten abbaut. In der Hefezelle finden sich dann reichlich Karbohydrasen, deren Tätigkeit sich also gegen Kohlehydrate richtet.

Nach den Untersuchungen von Henry und Auld vermag der Hefepreßsaft und auch Hefe und Azetondauerhefe Amygdalin in Blausäure, Benzaldehyd und Glykose zu spalten, welch letztere gleich weiter in Alkohol und Kohlendioxyd vergoren wird. Damit ist die Anwesenheit einer Glykosidase, der Amygdalase oder des Emulsins in der Hefe erwiesen. Auch andere Forscher konnten in einzelnen Hefen Amygdalase nachweisen. Allgemein scheint sie aber in den Hefen nicht vorzukommen. Die Sache scheint übrigens sehr kompliziert zu liegen, da nach Erwärmung der Hefeauszüge das Emulsin bei 60° zerstört wird, während noch eine Glykosidase dabei erhalten bleibt, die α-Methylglykosid spaltet. Von Polysaccharasen findet sich in einzelnen Hefen **Amylase.**

In bezug auf die Quantität der Stärke verzuckernden Enzyme sind die dafür in Betracht kommenden Hefearten verschieden. Dextrin spalten besonders kräftig Saccharomyces acetaethylicus, Mycoderma sphaeromyces und endlich Schizosaccharomyces Pombe.

Der Abbau des Glykogens, eines Reservestoffes der Hefe, scheint ebenfalls durch ein besonderes Enzym, die Glykogenase, zu erfolgen. An Abbauprodukten dürften dabei Maltose, Isomaltose und Erythro- und Achroodextrin entstehen, worüber wir aber noch sehr ungenügend unterrichtet sind. Auch über die intra- und extrazelluläre Tätigkeit des glykogenspaltenden Enzymes herrscht keine Einstimmigkeit, da einerseits Befunde vorliegen, nach denen Hefe in der Nährlösung befindliches Glykogen nicht aufnimmt und spaltet, während der Hefepreßsaft es rasch vergärt, andererseits aber berichtet wird, daß auch eine Assimilation von im Kultursubstrat befindlichem Glykogen durch Hefe erfolgen soll. Vielleicht sind beide Anschauungen richtig und für die verschiedenen Befunde nur wechselnde physiologische Zustände der Hefe verantwortlich.

Es wurden auch Hefen bekannt, die Inulin hydrolytisch zu spalten vermögen und dementsprechend **Inulinase** führen. Die Zahl derselben ist sehr gering. Es sind die Logos-Hefe, der Saccharomyces marxianus, Schizosaccharomyces mellacei und Schizosaccharomyces Pombe neben einigen weniger bekannten Arten. Die Inulinase spaltet nur Inulin in Fruktose und greift Stärke überhaupt nicht an.

Manche Hefen enthalten auch Trisaccharasen, wie **Raffinase,** durch die Raffinose in Fruktose und Melibiose gespalten wird. So vermag Schizosaccharomyces octosporus nur Raffinose wie angegeben zu

zerlegen, greift aber Rohrzucker überhaupt nicht an. Auch die Spaltung der Gentianose in d-Fruktose und Gentiobiose durch Hefe geht auf eine Trisaccharase, die Gentianase, zurück.

In ihrer Wirkungsweise stehen die Trisaccharasen der Disaccharase **Invertase** sehr nahe, ohne daß wir aber berechtigt wären, erstere völlig fallen zu lassen und sie mit der Invertase zu identifizieren. Dies geht schon daraus hervor, daß der eben genannte Schizosaccharomyces octosporus zwar die Raffinase erzeugt und mit ihr Raffinose angreift, nicht aber Rohrzucker zu spalten vermag, was geschehen müßte, wenn die Raffinase mit der Invertase identisch wäre. Andererseits vermögen einige Kahmhefen allerdings Rohrzucker zu vergären, führen also Invertase, ohne daß sie auch Raffinose zu spalten und weiter zu verarbeiten vermöchten. Die genannten Befunde zeigen zur Genüge die Richtigkeit der Annahme, daß die Invertase und Raffinase, bzw. die Trisaccharasen überhaupt, verschiedene Enzyme sind.

Invertase ist in weitaus den meisten Hefen reichlich vorhanden und fehlt nur in dem schon genannten Schizosaccharomyces octosporus, Saccharomyces apiculatus und zahlreichen Torulaarten. Sie ist ein Endoenzym, das sich aus jungen und gesunden Hefezellen nur in sehr geringer Menge und mit großen Schwierigkeiten gewinnen läßt. Invertase läßt sich aber nach Zertrümmerung der Zellen oder nach Behandlung derselben mit Chloroform, Toluol oder Alkohol und nachheriger Reinigung durch Fällen und Dialysieren ziemlich rein herstellen. Die so erhaltene Invertase ist keine Eiweißsubstanz, enthält aber noch Kohlehydrate. Übrigens scheinen bei den einzelnen Hefearten Verschiedenheiten der Invertase vorzukommen, die sich besonders durch Unterschiede in der Optimaltemperatur darstellen. So liegt letztere bei den untergärigen Hefen sehr viel tiefer als bei den obergärigen.

In einigen Hefen findet sich mehr oder minder reichlich **Laktase.** Dies gilt in erster Linie für die besonders Milchzucker vergärenden Saccharomyceten, wie Saccharomyces Kefir, Saccharomyces Tyrocola und die armenische Mazunhefe, die hier als bekanntere Beispiele dienen sollen.

Die meisten Hefen führen reichlich **Maltase**, die aber ziemlich stark in den Zellen zurückgehalten wird, weshalb man die Zellen vor der Extraktion mit Wasser trocknet. Erst aus der vorher getrockneten Hefezelle diffundiert sie leicht. Allerdings enthält der so gewonnene Auszug immer auch Invertase, mit Ausnahme von Schizosaccharomyces octosporus, der, wie oben gesagt, letztere überhaupt nicht erzeugt. Die Maltase fehlt allen „Milchzuckerhefen", die an ihrer Stelle Laktase führen.

Ein der Maltase nahestehendes Hefeenzym ist die **Trehalase**, die spezifisch auf Trehalose wirkt. Wie schon bei den Bakterienenzymen mitgeteilt, führen dieses Enzym besonders die Hefen vom Typus Frohberg. Es läßt sich aus ihnen aber durch einfache Wasserextraktion nicht gewinnen, ist also ein Endoenzym. Es wurde übrigens auch schon in zahlreichen anderen Saccharomyceten nachgewiesen. Wegen der großen strukturellen Verschiedenheit der Maltose und Trehalose kann in der Trehalase wohl kaum eine Modifikation der Maltase erblickt werden.

Die untergärigen Bierhefen enthalten endlich noch die Disaccharase **Melibiase**, die aber fast allen obergärigen Hefen fehlt.

Auch sie läßt sich nur schwierig aus den Hefezellen mit Wasser ausziehen.

Damit ist die Reihe der in den Saccharomyzeten mehr oder weniger weit verbreiteten und mit Sicherheit nachgewiesenen Schizasen erschöpft.

In Hefen wurden dann noch oxydierende Enzyme, also Oxydasen, nachgewiesen. Wir finden bei einer Art sogar eine kräftige Essigsäurebildung aus Äthylalkohol, die ihren tieferen Grund wohl in einer **Alkoholase** haben wird. Eine andere, nicht Alkohol bildende Hefe, Saccharomyces Hansenii aus Baumwollsaatmehl vermag Dextrose, Gallaktose, Mannit usw. zu Oxalsäure zu vergären. Sie produziert demnach eine **Azidoxydase**. Aldehydasen, also Enzyme, die Salizylaldehyd zu Salizylsäure und Benzylalkohol zu Benzoesäure verbrennen, konnten in Hefen und in Pflanzen überhaupt noch nicht beobachtet werden.

Phenolasen konnten in zahlreichen Hefen nachgewiesen werden.

Hier sei auch auf die sogenannte „Oenoxydase" hingewiesen, durch die das bekannte „Umschlagen" oder „Brechen" des Weines hervorgerufen wird. Diese Oxydase kann durch Fällen mit Alkohol aus solchem Wein gewonnen werden. Ihr wird auch eine wesentliche Beteiligung am „Altern" des Weines zugeschrieben. Sie ist wenig beständig und wird schon bei 60° vernichtet. Besonders empfindlich erweist sie sich auch gegen schweflige Säure, weshalb sich in geschwefelten Fässern die genannten Weinkrankheiten weniger leicht einstellen. Da nun die in derart erkranktem Wein vorkommenden Mikroorganismen keine Oenoxydase zu erzeugen vermögen, dürfte dieselbe eher von den Trauben her in den Wein gelangen als von irgendwelchen Hefen. Wir können sie demnach als Produkt der Weinbeeren ansehen.

Peroxydasen fehlen in den Hefen vollends, obwohl sie sonst im Pflanzenreich außerordentlich weit verbreitet sind.

Die Hefezelle ist reich an Zymasen, den schon auf Seite 103 teilweise charakterisierten Enzymen. Hier sei dazu noch ein wenig nachgetragen. Diese Enzyme bauen gärfähigen, einfachen Zucker in einer Reihe von Stufenreaktionen ab. Dabei handelt es sich um Oxydoreduktionen, deren Wirkung darin besteht, daß sie in einem Teil des abgebauten Moleküles Sauerstoff und gleichzeitig in dem anderen Teil desselben Wasserstoff umlagern. Wie schon früher gesagt, handelt es sich um eine Reihe von inneren Oxydationen und Reduktionen, wozu der notwendige Sauerstoff der Verbindung selbst entnommen wird. Sie verlaufen daher auch unter Abschluß des Luftsauerstoffes. Als Endprodukt entstehen dabei einerseits Kohlendioxyd und andererseits die stark reduzierten Körper Alkohol und Glyzerin.

Wenn wir auch zurzeit noch keinen vollkommen sicheren Einblick in den Verlauf der Stufenreaktionen und die Wirkung der sie beschleunigenden Enzyme besitzen, erscheint doch mit einem hohen Grad von Wahrscheinlichkeit die Annahme berechtigt, daß für dieselben eine Reihe entsprechender Enzyme besteht. Die gärfähige Monose dürfte zuerst in Methylglyoxal $CH_3CO.COH$ oder in Glyzerinaldehyd $CH_2OH.CHOH.COH$ übergeführt werden. Der Glyzerinaldehyd kann selbst wieder leicht in Methylglyoxal umgewandelt werden. Der weitere Abbau des Methylglyoxals kann nun nach zwei Richtungen erfolgen. Entweder wird das Methylglyoxal zu Milchsäure oder zu Brenztraubensäure abgebaut. Im ersten Falle konnte ein spezifisches Enzym nachgewiesen werden, das

die Spaltung des Methylglyoxals durch Anlagerung von Wasser beschleunigt, wobei die Elemente des Wassers nicht an zwei Molekülen, sondern an zwei Akzeptoren desselben Moleküles oxydoreduzierend eintreten, im Sinne der Gleichung:

$$\begin{matrix} CH_3CO \\ | \\ CHO \end{matrix} + \left\{ \begin{matrix} H_2 \\ O \end{matrix} \right. = CH_3CHOH \,.\, COOH$$

Neuberg nannte dieses Teilenzym der Zymase Ketonaldehydmutase. Dabei wird meist die linksdrehende Modifikation der Milchsäure gebildet.

Sowohl die gebildete Milchsäure als auch das Methylglyoxal kann weiter durch oxydierende Enzyme in Brenztraubensäure verwandelt werden, im Sinne der Gleichung:

$$\begin{aligned} CH_3 \,.\, CHOH \,.\, COOH + O &= CH_3 \,.\, CO \,.\, COOH + H_2O \\ CH_3 \,.\, CO \,.\, CHO + O &= CH_3 \,.\, CO \,.\, COOH \end{aligned}$$

Der weitere Abbau der Brenztraubensäure vollzieht sich so, daß Carboxyl abgespalten wird, wobei wieder ein weiteres Teilenzym in Tätigkeit tritt, die Carboxylase. So entsteht Azetaldehyd nach der Gleichung:

$$CH_3 \,.\, CO \,.\, COOH \rightarrow CH_3 \,.\, CHO + CO_2$$

Durch Anlagerung von Wasserstoff an den Azetaldehyd wird Alkohol gebildet.

Diese kurze Darstellung möge nur einen Überblick über den jetzigen Stand unserer Kenntnisse von der alkoholischen Hefegärung geben. Wir sind noch viel zu wenig in diese schwierige Materie eingedrungen, um in den Fragen der Teilenzyme klar zu sehen.

Daß Hefe eine Reihe von Verbindungen reduziert, ist eine bekannte Tatsache. Erwähnt sei hier vor allem die Reduktion von Sulfaten und Thiosulfaten, bei denen Schwefelwasserstoff entsteht. Übrigens beobachtet man Schwefelwasserstoffbildung auch beim Zusatz von Schwefelblumen zu Hefezuchten. Kaliumpermanganat, Chlorate, und jodsaure Salze werden ebenfalls reduziert. Auch oxydierte Verbindungen von Tropaeolin, Tetra- und Dimethylparaphenylendiaminchlorid und anderes mehr unterliegen der Reduktion durch Hefe. Man versuchte, diese Reduktionserscheinungen auf besondere Enzyme, **Reduktasen**, zurückzuführen. Das **Philotion**, das schwefelwasserstoffbildende Enzym, sei hier erwähnt. Wahrscheinlich haben die Reduktionen nicht in besonderen Enzymen ihre Ursache, sondern in leicht oxydablen Gruppen der Eiweißkörper.

Die Hefe ist auch reich an Katalase, also jenem Enzym, das Wasserstoffperoxyd in Wasser und molekulären Sauerstoff zerlegt.

Am Schlusse der Besprechung der Chemie der Hefezelle sei noch kurz auf Riechstoffe hingewiesen, die durch Hefen erzeugt werden. Aus der Hefe konnte ein ätherisches Öl in außerordentlich geringer Menge gewonnen werden, das in konzentriertem Zustande nach Hyazinthen roch. Sehr verdünnt gab es einen Geruch, der demjenigen der frischen Hefe entsprach. Auch Fruchtätherbildung wurde an Hefen beobachtet.

4. Physiologie und Biologie der Hefe.

Wie die Bakterien, überhaupt Organismen, brauchen auch die Hefen zur Entwicklung und zur Entfaltung der verschiedenartigsten Lebensäußerungen eine Nahrung. Dieselbe setzt sich aus anorganischen und organischen Verbindungen zusammen, die wieder eine Reihe von unbedingt notwendigen Elementen in ganz bestimmter Bindung enthalten müssen. Die zum Aufbau der Leibessubstanz unerläßlichen Elemente sind Stickstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Kohlenstoff, Kalium, Magnesium, Schwefel und Phosphor.

Dieselben werden teils als organische Verbindungen, wie Kohlehydrate und Abkömmlinge oder Bruchstücke der Eiweißkörper, von den Hefen unmittelbar oder nach voraufgehender Spaltung aufgenommen und assimiliert, teils in Form von Salzen mit anorganischen und organischen Säuren, wobei als Lösungsmittel immer das Wasser reichlich zugegen sein muß.

Dabei muß aber immer berücksichtigt werden, daß die Verhältnisse hinsichtlich der Ernährung ganz anders geartet sind, wenn von der Hefe eine ganz bestimmte Leistung verlangt wird, wie zum Beispiel die größtmögliche Alkoholbildung oder die maximale Vermehrung, wie sie bei der Preßhefeerzeugung angestrebt wird.

A. Anorganische Nahrungsstoffe.

Wie schon gesagt, gehört das Kalium zu den lebenswichtigen und unerläßlichen Baustoffen. Dasselbe kann durch Natrium, Kalzium und Lithium keinesfalls ersetzt werden. Allerdings genügen schon sehr geringe Mengen von Kalium, um das Hefewachstum zu ermöglichen. Größere Gaben wirken als Gift, unterdrücken und verzögern nicht nur das Wachstum und die Vermehrung, sondern wirken auch ungünstig auf die Gärtätigkeit. Am besten eignen sich für die Kaliumzufuhr das Chlorid und Phosphat.

Das Magnesium, besonders im Magnesiumsulfat, ist zum Wachstum ebenfalls unumgänglich notwendig. Es übt auch nach neueren Untersuchungen einen wesentlichen Einfluß auf die Farbstoffbildung der Hefen aus und lenkt dieselbe in ganz bestimmte Bahnen. Es kann durch Kalzium nicht vertreten werden, obwohl letzteres als Phosphat oder Chlorid das Wachstum der Hefe und auch ihre Gärtätigkeit in hervorragendem Maße fördert.

Schwefel und Phosphor haben wir ebenfalls als unerläßliche Baustoffe kennen gelernt. Dieselben stehen den Hefen in den oben angeführten Salzen bereits in genügender Menge zur Verfügung. Jedenfalls werden dieselben aber auch aus organischen Verbindungen bezogen, wie es beim Wachstum der Hefe in Bierwürze geschieht.

Ob auch **Eisen** ein zur Hefeentwicklung unbedingt notwendiger Bestandteil der Hefenahrung ist, kann noch keineswegs mit Sicherheit erklärt werden. Auffallend ist es jedenfalls, daß man das Nukleoproteid der Hefe eisenhaltig fand, so daß an die Möglichkeit gedacht werden muß, daß Eisen ein wichtiger Bestandteil der Hefenukleinsäure ist. Durch Eisen wird auch das Wachstum der Hefe gefördert und besonders die Teilungsgeschwindigkeit derselben wesentlich erhöht,

so daß durch Eisengaben die Hefeernte entschieden bedeutend vergrößert wird. Dies gilt besonders für die Darreichung des Eisens in Form von Ferrosulfat, aber weniger für diejenige in Form des Chlorides.

Sowie den Bakterien muß auch der Hefe eine ausreichende Menge von Wasser zur Verfügung stehen, und die meisten Nahrungsstoffe müssen darin gelöst dargereicht werden. Das beste Wachstum und die größte Hefeernte erhält man dementsprechend auch bei der Zucht derselben in Nährlösungen.

B. Organische Nahrungsstoffe.

Der Stickstoffbedarf der Hefe kann nun in verschiedener Weise gedeckt werden; jedenfalls muß aber gebundener Stickstoff gegeben werden. In bezug auf die Art der assimilierbaren Stickstoffverbindungen erweisen sich die obergärigen Hefen am wählerischsten, während die untergärigen Hefen in dieser Hinsicht leichter zu befriedigen sind. Im allgemeinen sind die Amide die den Hefen zuträglichsten und von ihnen am besten und leichtesten assimilierbaren Stickstoffverbindungen. Dies gilt ganz besonders für die Kulturhefen, also Bier-, Wein-, Brennerei- und Preßhefen. Peptone werden fast ebensogut verarbeitet, nachdem sie vorher von den Hefen in Amide gespalten worden sind. Nitrate können im allgemeinen den Hefen nicht als Stickstoffquellen dienen. Eine Ausnahme macht nur der Saccharomyces acetaethylicus, der auch mit Nitraten als Stickstoffnahrung vorlieb nimmt. Ammonsalze werden im allgemeinen von Kahmhefen assimiliert.

Übrigens herrscht ein inniger Zusammenhang zwischen der Ausnützbarkeit einer Stickstoffquelle und den gleichzeitig zur Verfügung stehenden Kohlenstoffquellen. Es können durch Variierung der letzteren erhebliche Änderungen in der Art der brauchbaren Stickstoffverbindungen herbeigeführt werden, wie daraufhin angestellte Versuche ergaben.

In bezug auf besondere Kohlenstoffquellen erweisen sich die einzelnen Hefespezies als mehr oder minder wählerisch. Peptone und Asparagin sind Nahrungsmittel für die Hefe, deren Stickstoff- und Kohlenstoffbedarf sie gleichzeitig zu decken vermögen. Wir haben es daher nicht unbedingt nötig, bei der Darreichung der genannten Nahrungsstoffe in allen Fällen auch noch eine besondere Kohlenstoffquelle beizugeben. Die Ernährung geht auch ohne sie glatt vonstatten, wenn auch meistens die Vermehrung keine so üppige ist. Ähnliche kombinierte Stickstoff- und Kohlenstoffquellen haben wir ja auch für die Bakterien kennen gelernt. Es sind rein genetische Kohlenstoff- und Stickstoffquellen, die den zum Aufbau der verbrauchten Leibessubstanz und zum Ansatz desselben bei der Vermehrung notwendigen Kohlenstoff und Stickstoff liefern. Erst bei der Darreichung des Stickstoffes in einfacheren Verbindungen müssen wir noch eine besondere assimilierbare Kohlenstoffquelle beifügen, um Vermehrung und Wachstum, überhaupt einen normalen Stoffwechsel zu ermöglichen. Aber auch in diesem Falle spielen die Dextrose und Lävulose als

Kohlenstoffquellen die erste Rolle, da allem Anschein nach gerade diese Kohlehydrate und nur diese unmittelbar assimilationsfähig sind. Damit soll aber keineswegs gesagt sein, daß als Kohlenstoffquelle nur Traubenzucker gegeben werden kann. Im Gegenteil, es gibt zahlreiche Hefen, die ihren Kohlenstoffbedarf auch aus Polysaccharosen usw. zu decken vermögen. Wir haben eine Reihe von Enzymen kennen gelernt, die alle hydrolytische Spaltungen solcher Verbindungen herbeiführen, wobei immer Glykose als ein Spaltprodukt entsteht. Dieselbe ist dann das unmittelbar assimilierbare Kohlehydrat.

Die Quantität der notwendigen Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen ist sehr gering. Wir pflegen bei allen unseren Züchtungsversuchen von Hefen im Laboratorium viel zu hohe Konzentrationen besonders der Kohlenstoffnahrung zu verwenden, sofern wir eben nur Wachstum und Vermehrung zu erreichen wünschen. Anders sind die Verhältnisse, wenn gleichzeitig eine kräftige Vergärung von Zuckern zu Alkohol und Kohlensäure herbeigeführt werden soll, wie es in der Praxis der Wein- und Bierherstellung und Brennerei geschieht. Deshalb kann eine kräftige Vermehrung der Hefe sehr wohl vonstatten gehen, ohne daß überhaupt eine alkoholische Gärung eintritt. Dieselbe ist durchaus kein für die Zelle lebenswichtiger Vorgang. Durch diese beim Vorhandensein von überschüssigen Mengen gärfähiger Zucker eintretende Nebenerscheinung der alkoholischen Gärung erwächst der Hefe für die Dauer kaum irgendein besonderer Vorteil, da dieselbe in dem selbst erzeugten Gift im Wachstum gehemmt und schließlich vernichtet wird. Nur im Anfang bietet eine geringe Menge von Alkohol in den Kulturen höchstens den Vorteil, daß andere, alkoholempfindlichere Organismen im Wachstum zurückgehalten werden und die Hefe eher die Oberhand gewinnt. Der Alkohol ist auch für die Hefe und für die meisten Bakterien ein ebenso heftiges Plasmagift wie für die Zellen der höheren Organismen. Man bezeichnet die für eine bestimmte Hefe gärfähigen Kohlehydrate auch als „zymotische Nahrung“ zum Unterschied von der schon früher genannten „genetischen Nahrung“, die allein für das Wachstum unerläßlich und bedeutungsvoll ist.

Man hat nun verschiedene Zucker und Glyzerin in bezug auf ihre Brauchbarkeit als Kohlenstoffquellen für einzelne Hefearten untersucht; die spätere kleine Tabelle soll in diese Verhältnisse einen Einblick gewähren.

Die Ergebnisse derselben wurden durch Züchtungsversuche unter Anwendung der Auxanographie Beijerincks erhalten. Im wesentlichen besteht die auxanographische Methode darin, daß man sich für die zu untersuchende Hefeart ein bei Zimmertemperatur erstarrendes Nährsubstrat zusammensetzt, das zwar alle notwendigen mineralischen Nährstoffe und eine zugängliche Stickstoffverbindung enthält, aber keine besondere Kohlenstoffquelle. In diesen sterilen Nährboden verimpft man die zu untersuchende Saccharomycetenart und gießt dann damit in Petrischalen Platten. Nach dem Erstarren bringt man Tropfen der Lösungen verschiedener Kohlehydrate darauf und beobachtet, ob dadurch ein Wachstum ermöglicht wird oder nicht. Tritt Wachstum ein oder wird dasselbe an denjenigen Stellen besonders gefördert, wo der aufgebrachte Tropfen liegt, so kann daraus geschlossen werden, daß das zugesetzte Kohlehydrat eine ausnützbare Kohlenstoffquelle für die

betreffende Hefeart vorstellt. Beijerinck verwendet eine Gelatine folgender Zusammensetzung:

Gelatine	100 g
Monokaliumphosphat	0,5 g
Ammoniumchlorid	0,5 g
Leitungswasser	1000 cc.

Die käufliche Gelatine muß vor der Verwendung zum obigen Nährboden mit kaltem destillierten Wasser gut ausgewaschen werden, um die löslichen Bestandteile derselben möglichst zu entfernen. Für gewisse Hefen, wie Saccharomyces apiculatus, Saccharomyces fragrans oder Saccharomyces Kefir muß an Stelle des Ammoniumchlorides Pepton oder Asparagin in einer Menge von 10 bzw. 5 g treten, da für diese Arten das genannte Ammonsalz keine ausnützbare Stickstoffquelle ist.

Nach diesem Verfahren untersucht, ergaben sich für einzelne Hefearten folgende Kohlehydrate als brauchbare Kohlenstoffquellen, bei denen ein + Zeichen eingesetzt ist. Das Zeichen — bedeutet, daß das betreffende Kohlenhydrat nicht angegriffen wird.

Nr.	Hefespezies	Dextrose	Lävulose	Saccharose	Laktose	Maltose	Dextrin	Gruppenbezeichnung
1	Saccharomyces apiculatus	+	+	—	—	—	—	Glukosehefen.
2	Saccharomyces fragrans	+	+	+	—	—	—	Saccharosehefen.
3	Saccharomyces cerevisiae	+	+	+	—	+	—	Maltosehefen.
4	Saccharomyces ellipsoideus	+	+	+	—	+	—	
5	Saccharomyces Kefir	+	+	+	+	—	—	Laktosehefen.
6	Saccharomyces Tyrocola	+	+	+	+	—	—	
7	Saccharomyces acetaethylicus . . .	+	+	+	—	+	+	Polysaccharosehefen.
8	Saccharomyces Pastorianus Rees .	+	+	+	—	+	+	

In bezug auf die Kohlenstoffquelle am wählerischsten und anspruchvollsten sind wohl diejenigen Saccharomyceten, welche nur Dextrose und Lävulose als Kohlenstoffquellen auszunützen vermögen. Man bezeichnet sie auch kurzweg als Glukosehefen, die also eine physiologische Gruppe bilden. Ihnen fehlen auch alle jene Enzyme, die die anderen genannten Kohlehydrate zu hydrolysieren vermögen. Dann sehen wir eine Hefe verzeichnet, die außer Dextrose und Lävulose nur Rohrzucker zu verarbeiten vermag, den sie mit Hilfe ihrer Invertase hydrolysiert. Wahrscheinlich ist auch bei ihr, wie bei allen folgenden, nur der Invertzucker unmittelbar assimilationsfähig und nicht etwa schon der Rohrzucker selbst. Man bezeichnet die außer Invertzucker nur Saccharose ausnützenden Hefen auch als Saccharosehefen.

Wir finden weiter Hefen, die allerdings Dextrose, Lävulose, Rohrzucker und Maltose als Kohlenstoffquellen verwenden können, andere aber nicht. Sie vereinigt man zur Gruppe der Maltosehefen.

Wieder andere Saccharomyceten greifen Maltose nicht an, wohl aber Milchzucker. Sie bilden die Gruppe der Laktosehefen.

Dextrin neben den anderen genannten Kohlehydraten wird nur von wenigen Hefen ausgenützt, die man in der Gruppe der Polysaccharosehefen vereinigt.

Allen Saccharomyceten dient aber Dextrose und Lävulose als ausgezeichnete Kohlenstoffquelle. Wenn wir uns an die verschiedenen Karbohydrasen, mit Hilfe derer die Hefen die Kohlenhydrate abbauen, erinnern, so kommen wir zum Ergebnis, daß bei diesen hydrolytischen Spaltungen von Laktose, Maltose usw. immer Glykose mindestens als ein Spaltprodukt entsteht. Dieser Umstand rechtfertigt die obige Annahme zur Genüge, daß eben nur Dextrose und Lävulose als unmittelbar assimilierbare Kohlenstoffquellen angesehen werden dürfen.

Außer den genannten Kohlenstoffquellen kommen als solche noch organische Säuren in Betracht, wie Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure und Ameisensäure, von denen die erstgenannte wohl am leichtesten und die letztgenannte am wenigsten assimiliert wird. Glyzerin stellt für Hefen eine nur sehr minderwertige Kohlenstoffquelle vor. Auch einige wenige Glykoside kommen als sehr untergeordnete Kohlenstoffquellen in Betracht.

Erwähnt seien hier noch die sogenannten Vitamine, Verbindungen, die an und für sich allerdings nur einen äußerst geringen Nährwert besitzen können, da sie in den Nährsubstraten nur in verschwindend kleiner Menge zugegen sind. Sie erhöhen aber den Stoffumsatz in der Zelle und fördern so die Entwicklung der Zellen in hohem Maße.

Die genannten Nährstoffe der Hefe müssen derselben in gelöstem Zustande zur Verfügung gestellt werden. Als Lösungsmittel kommt ausschließlich **Wasser** in Betracht. Dasselbe muß immer in reichlicher Menge zugegen sein, einerlei, ob man zur Zucht flüssige oder gallertige Nährböden benutzt.

Die chemische Reaktion des Nährbodens ist ebenfalls von großer Bedeutung für das Hefewachstum. Die meisten Spaltpilze bevorzugen eine leicht alkalische Reaktion des Nährsubstrates. Sehr geringe Mengen freier H-Ionen werden von ihnen ebenfalls vertragen, wenn auch dadurch meist bald eine Verzögerung des Wachstums herbeigeführt wird. Die Sproßpilze lieben im allgemeinen eine schwach saure Reaktion des Nährbodens, dessen Wasserstoffzahl p_H unter 7 liegt. In bezug auf Quantität und Qualität der freien Säure erweisen sich die einzelnen Hefearten allerdings verschieden. Auch wird ihr Verhalten durch die übrigen gleichzeitig vorhandenen Nährbodenbestandteile und deren Menge nicht unwesentlich beeinflußt.

Daraufhin angestellte Untersuchungen haben ergeben, daß im allgemeinen von der Hefe eine um so größere Säuremenge vertragen wird, je nährstoffreicher die Kulturflüssigkeit ist. In sehr nährstoffarmen Nährlösungen liegt beispielsweise das Wachstumsoptimum der versuchten Frohberghefe sehr dem Neutralitätspunkt genähert. Wird dagegen dieselbe Hefe in einer nährstoffreichen, also ungehopften Bierwürze gezüchtet, bewegt sich das Optimum schon in deutlichen Säureregionen, die etwa einer Wasserstoffzahl $p_H = 4{,}6$ entsprechen.

So wie den Bakterien muß auch der Hefe eine ausreichende Menge von **Wasser** zur Verfügung stehen, und die Nahrungsstoffe müssen darin gelöst dargereicht werden. Das beste Wachstum und die größte Hefeernte er-

hält man dementsprechend auch bei der Zucht derselben in Nährlösungen.

Wie schon früher gesagt, dienen viele organische Säuren geradezu als Kohlenstoffquelle für manche Arten. So kann der Saccharomyces mycoderma freie Milchsäure gut verarbeiten. Im allgemeinen sind den Hefen am leichtesten Zitronensäure und Apfelsäure zugänglich, von denen sie im Kultursubstrat beträchtliche Mengen vertragen. Bedeutend weniger ausnützbar sind die Weinsäure und Bernsteinsäure, weshalb größere Mengen im Nährboden wachstumshindernd wirken. In geringer Menge kann auch Ameisensäure vorhanden sein, die ebenfalls in sehr verdünntem Zustande (4—7 pro mille) für die Hefe ausnützbar ist. Die meisten anorganischen Säuren werden nur in sehr verdünntem Zustande vertragen, worüber wir später noch Näheres erfahren werden.

C. Stoffwechsel der Hefe.

Wie bei den Bakterien, überhaupt allen Organismen, verläuft der gesamte Lebensprozeß der Hefezellen in einem ständigen Aufbau- und Abbauvorgang, der Assimilation und Dissimilation. Erstere haben wir soeben kennen gelernt, bzw. diejenigen Elemente und Verbindungen, die dazu verwendbar sind. Das tiefere Wie der Assimilation ist auch für die Hefen noch ungelöst. Wir kennen noch nicht die tieferen Ursachen derselben und die Einzelvorgänge, wir sehen nur gewisse Verbindungen aus dem Nährsubstrat verschwinden und andere Substanzen, Plasma, Zellhaut und Reservestoffe als Endprodukte der Assimilation auftreten. Die verschiedenen Zwischenprodukte, und solche müssen jedenfalls gebildet werden, sind uns so ziemlich unbekannt. Vielleicht wird auch hier die experimentelle Synthese eher zum Ziele führen als die Analyse des fertigen Endproduktes.

Bei der Dissimilation entstehen ebenfalls eine Reihe verschiedener chemischer Verbindungen aus den einzelnen Leibesbestandteilen, die meist sehr tief bis zu den einfachsten Bausteinen zerlegt werden. Meist handelt es sich dabei um hydrolytische Spaltungen, die durch die uns schon bekannt gewordenen Enzyme unterhalten und befördert werden. Die Spaltungen liefern auch für die Zelle nicht mehr brauchbare Abfallstoffe, die meist entweder schon stabile chemische Verbindungen sind oder rasch in solche übergehen. Ein großer Teil dieser Abbauprozesse liefert nun die Energie, welche die Zelle zu ihrer synthetischen Arbeit und zur Erhaltung aller anderen Lebensäußerungen braucht. Wir werden demnach alle Abbauprozesse als für die Zelle energieliefernd betrachten dürfen, bei deren Ablauf keine Wärme frei wird. Wird Wärme frei, also Energie in Wärme umgesetzt, die wir messen und nachweisen können, so bedeutet dies für den Zellhaushalt einen Energieverlust. Nur das Plus von Energie, das nicht in Form von Wärme zutage tritt, kommt der Zelle voll zugute. Als besonderen Dissimilationsvorgang betrachtet man die **Atmung**, deren Definition wir bereits bei den Bakterien gegeben haben. Auch die Hefe atmet und baut dabei Teile ihrer Leibessubstanz unter Oxydation zu Kohlensäure und Wasser ab. Die Hefe vermag auch unter Ausschluß von freiem Sauerstoff intramolekular eine gewisse

Zeit zu atmen, ein Vorgang, der neben der alkoholischen Gärung, die bekanntlich am Zuckermolekül einsetzt, verläuft. Gerade die mit der Hefe angestellten Atmungsversuche verleiten zur Gleichstellung von intramolekularer Atmung oder Atmung überhaupt und alkoholischer Gärung. Dieselbe ist aber absolut unhaltbar und unberechtigt, denn beides sind, wie schon einmal dargetan, zwei voneinander vollkommen unabhängige Vorgänge, von denen gerade die alkoholische Gärung gewiß ein nicht unbedingt notwendiger Lebensvorgang ist, sondern vielmehr eine bei den verschiedenen Sproßpilzen nebenhergehende Erscheinung. Dieselbe findet sich bei den verschiedenen Hefen verschieden intensiv, abgesehen davon, daß einige Arten überhaupt nicht alkoholbildend sind. Außerdem können selbst die alkoholerzeugenden Hefen auch ohne diese Funktion üppig gedeihen und atmen gewiß normal. Ganz abgesehen davon, daß die Atmung infolge der Wärme freimachende Oxydationen gar nicht in der Lage ist, nennenswerte Energiemengen dem Hefeorganismus zur Verfügung zu stellen, selbst wenn sie Plasmasubstanz oxydativ abbaut, so ist sie zur Energielieferung noch weniger befähigt, wenn sie den eingeführten Zucker unmittelbar durch eine alkoholische Gärung und Weiteroxydation des gebildeten Alkohols zu Wasser und Kohlensäure über eine Reihe von Zwischenprodukten zerlegen würde. Diese stufenweise Verbrennung liefert allerdings, wie es sich experimentell dartun läßt, eine gewisse Wärmemenge, die als Wärme frei wird. Wie schon oben gesagt, nützt dem Organismus die dabei entstehende Wärme in bezug auf seinen Energiehaushalt gar nichts. Die im Zuckermolekül gespeicherte Energie tritt uns quantitativ als Wärme entgegen und ist somit für die Zelle verloren, sobald sie von uns während des Wachstums kalorimetrisch bestimmt werden kann, also in dieser Form zur Wahrnehmung gelangt. Soll der Organismus mit Energie reichlich versorgt werden, so darf die für ihn in Frage kommende Energiemenge nicht in Form von Wärme auftreten, sondern von anderen Kräften, deren Maß uns die Teilungsgeschwindigkeit der Zellen und die Raschheit des Wiederaufbaues der verbrauchten lebenden Materie abgibt. Nur wenn die Atmung zu keiner Wärmeproduktion führen würde, dann hätten wir einen guten Grund und ein Recht, in ihr die oberste und beste Energiequelle zu erblicken.

Gerade die Hefe gilt als klassisches Beispiel für den Beweis der Annahme, daß sich Atmung und alkoholische Gärung in den meisten Punkten decken sollen. Man geht sogar so weit, in dem Glykogen der Hefe das einzige Atmungsmaterial anzunehmen, und hat auch Schemata aufgestellt, die das Wesen der Atmung und den Ablauf der dabei auftretenden oxydativen Vorgänge erschöpfen sollen. Danach ist die Zymase (Alkoholase) das für die Atmung wichtige Enzym, das zuerst den Zucker in die Atomkomplexe CH_2OH — CHOH — COH spaltet. Allerdings können auch auf anderem Wege die Zuckerspaltungen vor sich gehen. Diese Gruppen soll das Plasma aufnehmen, verarbeiten und schließlich als Glykogen in Vakuolen in der Zelle ausscheiden. Erst das Glykogen soll dann veratmet werden können, nachdem es durch eine Carbohydrase, die vorläufig nicht näher untersucht ist, in Glykose umgewandelt worden ist. Die Glykoseveratmung liefert dann Kohlensäure und Wasser unter Aufnahme von Sauerstoff, der durch einen Sauerstoffüberträger, also mit

Hilfe einer Oxydase, eingeführt wird. Diese Oxydation mit dem von außen zugeführten Sauerstoff ist allerdings die Ursache einer ausgiebigen Wärmeabgabe, die zu beträchtlichen Temperaturerhöhungen Anlaß gibt.

Einer tieferen Überlegung der bei dem Erscheinungskomplex, den wir Atmung zu nennen gewohnt sind, auftretenden Vorgänge hält die obige Glykogenatmungstheorie durchaus nicht stand. Diese Verquickung von alkoholischer Gärung und Atmung schafft eine Reihe von Unklarheiten und entspricht in keiner Weise den objektiven Befunden, die jetzt immer noch in einer gewissen Richtung und zur Unterstützung derselben gedeutet, aber nicht vorurteilslos betrachtet werden. Schon der Umstand, daß zahlreiche Hefen überhaupt niemals Glykogen speichern oder erzeugen, doch Zucker vergären und atmen, nimmt dieser Theorie wesentlich an Boden. Außerdem tritt die Glykogenspeicherung nur bei der Gegenwart größerer Zuckermengen auf, während sie bei geringem Zuckerzusatz zum Nährsubstrat trotz besten Wachstumes ausbleibt. Dies würde also eine Verminderung oder ein Aussetzen der Atmung bedeuten. Das Wachstum wäre also von der Atmung ziemlich unabhängig und die Notwendigkeit derselben sehr in Frage gestellt. Es ließen sich aber noch viele andere Gegeneinwände erheben, und eine tiefere Betrachtung dieses Problems würde zu sehr eigenartigen und mit den Tatsachen nicht mehr in Einklang zu bringenden Schlüssen führen.

Unter Festhaltung einer Trennung von Atmung und alkoholischer Gärung wird es bei den alkoholbildenden Hefen schwer, aus dem sog. Atmungskoeffizienten, dem Verhältnis der in einer bestimmten Zeit ausgehauchten Kohlensäure zu dem in derselben Zeit aufgenommenen und verbrauchten Sauerstoffe ($CO_2 : O_2$) besonders viel zu schließen. Man kann höchstens sagen, daß mit zunehmender Temperatur innerhalb der für den Organismus überhaupt erträglichen Temperaturgrenzen eine Steigerung der Atmungsintensität erfolgt. Gewisse Gifte, wie salpetersaures Kokain oder Strychnin wirken, in kleinen Dosen gegeben, ebenfalls fördernd auf die Atmung ein. Das gleiche gilt für Ozon, einige Metallsalze und auch für Alkalien in sehr verdünntem Zustande. Sehr verdünnte Säuren sollen dagegen die Atmung herabsetzen, was auch ein allgemeiner Hungerzustand der Hefe zur Folge hat.

Neben der Atmung treten in der Hefe, wie in jeder anderen lebenden Zelle, noch zahlreiche andere Abbauprozesse ein, die ebenfalls zur Dissimilation gehören und einen wichtigen Faktor im Zellenleben und im Zellenhaushalt spielen. Bei den die Eiweißstoffe der Hefe betreffenden Abbauvorgängen tritt auch eine Reihe von Produkten auf, die man kurzweg als „**Fuselöle**“ bezeichnet und deren Anwesenheit in größerer Menge mitunter im technischen Gärungsbetrieb sehr unerwünscht ist. Den Hauptbestandteil der Fuselöle bildet der **Amylalkohol** bzw. Isoamylalkohol, der besonders reichlich unter Abschluß des Luftsauerstoffes und bei höheren Temperaturen von den Hefen gebildet wird. Als Ausgangsprodukt gilt das Leuzin und Isoleuzin, also Spaltungsprodukte des Eiweißes. Bisher wurde die Bildung des Amylalkohols nur mit lebenden Zellen erhalten, womit aber nicht gesagt sein soll, daß dabei nicht etwa auch Enzyme tätig sein könnten. Nach Ehrlich entsteht aus dem Leuzin bei Abbau desselben durch eine Amidase eine Oxysäure. Der Amylalkohol wird dann über den Isovaleraldehyd gebildet, wobei

als Nebenprodukt auch gleichzeitig Ameisensäure auftritt. Damit fällt auch die früher herrschende Anschauung über die Entstehung der Fuselöle, nach der dieselben als Gärprodukte bei der alkoholischen Hefegärung angesehen wurden.

D. Die alkoholische Hefegärung.

Wie schon oben angedeutet, ist die alkoholische Gärung als ein neben dem normalen Stoffwechsel einhergehender Vorgang anzusehen. Derselbe tritt ganz besonders bei der Anwesenheit gärfähiger Kohlehydrate in den Vordergrund. Das in der Gärungsindustrie erstrebte Endprodukt in Form des Äthylalkohols neben Kohlensäure wird dabei niemals rein erhalten, da der Gärungsprozeß bei seinem Verlauf über eine Reihe von Zwischenprodukten beim gleichzeitigen Ablauf des Zellstoffwechsels eine Reihe von Verbindungen liefert, die als Verunreinigung in Erscheinung treten. Auch die Versuche mit der zellenfreien Gärung unter Anwendung des Hefepreßsaftes vermögen eine glatte Trennung der Stoffwechselprodukte und Gärprodukte nicht herbeizuführen, da der Hefepreßsaft immer noch neben den Zymasen die für den Stoffwechsel und die Ernährung überhaupt wesentlichen Enzyme in mehr oder minder wirksamem Zustande enthält.

Unmittelbar vergärbar sind nur Hexosen, wie Dextrose und Lävulose. Alle anderen Zucker müssen zuvor in solche durch besondere Enzyme hydrolytisch gespalten werden. Die verschiedenen Heferassen erzeugen nun bei der Gärung verschiedene Mengen von flüchtigen Säuren, von denen die Essigsäure wohl immer nachzuweisen ist. Außerdem entstehen durch die gärende Hefe regelmäßig mehr oder minder große Quantitäten von flüchtigen und nichtflüchtigen Estern, unter denen der Essigester wohl am verbreitetsten ist. Durch sie bekommt das endgültige Gärprodukt in vielen Fällen den es charakterisierenden Geschmack und Geruch. Als regelmäßiger Befund bei der alkoholischen Gärung ist auch das Auftreten von Aldehyden, besonders Azetaldehyd, anzusehen, die Zwischenprodukte zwischen Fettsäuren und Alkoholen vorstellen. Wir haben ja bei der Essigbildung aus Alkohol als intermediäres Produkt Azetaldehyd kennen gelernt. Auch bei der Hefe scheint dieses Nebenprodukt dann ganz besonders in den Vordergrund zu treten, wenn während des Gärverlaufes eine reichliche Lüftung, also Versorgung mit Sauerstoff, herrscht und sich Hefevegetationen als Hautbildungen an der Oberfläche reichlich ansiedeln. Es kann in diesem Falle der Äthylalkohol in statu nascendi leicht weiter zu Aldehyd oxydiert werden. Unter diesen Umständen werden von den Brennereihefen besonders große Mengen Azetaldehyd erzeugt, wie die Untersuchungen von Raymann und Kruis ergaben. Obwohl Milchsäure das Zwischenprodukt bei der Vergärung von Hexosen zu Äthylalkohol ist, so konnte sie bei der Gärung durch lebende Hefe zwar nicht nachgewiesen werden, wohl aber als Nebenprodukt bei der zellenfreien Gärung durch Hefepreßsaft. Bernsteinsäure ist auch ein ständiges Nebenprodukt der alkoholischen Gärung, wenn auch deren Menge großen Schwankungen unterliegt. Weiter kann das Auftreten von Glyzerin bei der Gärung als konstant gelten. Die gebildete Menge ist ebenfalls sehr schwankend und hängt einerseits von der Zusammensetzung

des Nährsubstrates und andererseits von der Art der Hefe ab. Ganz allgemein kann der Satz gelten, daß reichliche Ernährung der Hefe zur kräftigen Glyzerinbildung Veranlassung gibt, die noch durch erhöhte Gärtemperatur vermehrt wird. Es findet übrigens bei der Weingärung eine weitaus größere Glyzerinbildung statt als beispielsweise bei der Biergärung.

Nicht unerwähnt sei, daß als Nebenprodukt mitunter auch Methylalkohol beobachtet wurde. Dies gilt vornehmlich für Gärungen von Fruchtsäften, wobei die Glykoside wahrscheinlich die Ursprungssubstanz vorstellen. Bei der alkoholischen Gärung entstehen in sehr geringen Mengen mitunter auch Propylalkohol aus Milchsäure und endlich Butylalkohol.

Das Wachstum der Hefe und auch ihre Gärfähigkeit wird nun durch eine Reihe von chemischen und physikalischen Einflüssen günstig oder ungünstig beeinflußt. Ganz allgemein kann man sagen, daß für schädliche Einwirkungen jeder Art die in besonders günstigen Ernährungsbedingungen lebende Hefe weniger empfindlich ist als eine solche, die schlecht und mangelhaft ernährt wird. Die Hefe selbst enthält bereits für sie giftige Stoffe. Diese Gifte scheinen dem Stoffwechsel zu entstammen und können auch aus der trockenen Bier- oder Preßhefe durch Extraktion gewonnen werden. Die Giftigkeit solcher Extrakte steigt noch durch Dialyse derselben gegen destilliertes Wasser, wobei die giftigen Stoffe die Membran nicht passieren. In älteren Kulturen wird die Ansammlung solcher giftiger Stoffwechselprodukte, die vielleicht gerade bei der Autolyse der Zellen besonders reichlich entstehen und Albumosen sein sollen, zur Wachstumseinstellung und zur Vergiftung der wenigen kräftigen und älteren Zellen führen. Auf Albumosen soll auch die Giftigkeit des Peptons und des Weizenmehles für Hefezellen zurückgehen.

Außer den in der Zelle selbst entstehenden Giften ist noch eine Reihe von organischen und anorganischen Verbindungen giftig für die Hefen. Sie wirken schon in geringen Konzentrationen im Nährsubstrat anwesend wachstumhemmend und die Gärung ungünstig beeinflussend. Hier müssen wir wieder eine strenge Scheidung zwischen Wachstum und Vermehrung als lebenswichtige Funktionen einerseits und alkoholische Gärung andererseits machen. Die verschiedenen giftig wirkenden Substanzen unterdrücken oder hemmen Wachstum und Gärung keinesfalls gleich. Im allgemeinen können kleinste Giftmengen nicht als unbedingt schädlich aufgefaßt werden. Sie erhöhen meist die Teilungsgeschwindigkeit, also das Wachstum der Zellen, und wirken in diesem Sinne auch fördernd auf die Gärung.

1. Wirkung der kurzwelligen Strahlen.

Von besonderem Interesse sind die Versuche P. Lindners über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die alkoholische Gärung. Die Gärung wurde bei 17° C in einer 10proz. Glukoselösung, der 5% einer gepreßten untergärigen Bierhefe zugesetzt waren, durchgeführt. In dem einen Falle wurde innerhalb 24 Stunden mit einigen Pausen die Versuchsanstellung durch eine Quarzlampe ultraviolett bestrahlt und von 2 zu 2 Stunden die gebildete Kohlendioxydmenge ge-

messen. Bei der nicht bestrahlten, sonst aber gleichgehaltenen Kontrollkultur wurde gleichzeitig die Kohlensäuremenge bestimmt. Dabei ergab sich die auffallende Erscheinung, daß die bestrahlte Probe eine rund 23-fache Kohlensäuremenge gegenüber der Kontrolle nach 24 Stunden aufgewiesen hat. Folgende Zusammenstellung zeigt dies:

Stunden:	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	
CO_2 ccm . .	156	645	1085	1475	1749	1929	2113	2265	2395	2505	2629	2743	bestrahlt
CO_2 ccm . .	4	118	119	119	119	191	119	119	119	119	119	119	Kontrolle

Noch auffallender tritt die äußerst große Förderung des Gärprozesses hervor, wenn man die Ergebnisse der beiden Versuche graphisch dar-

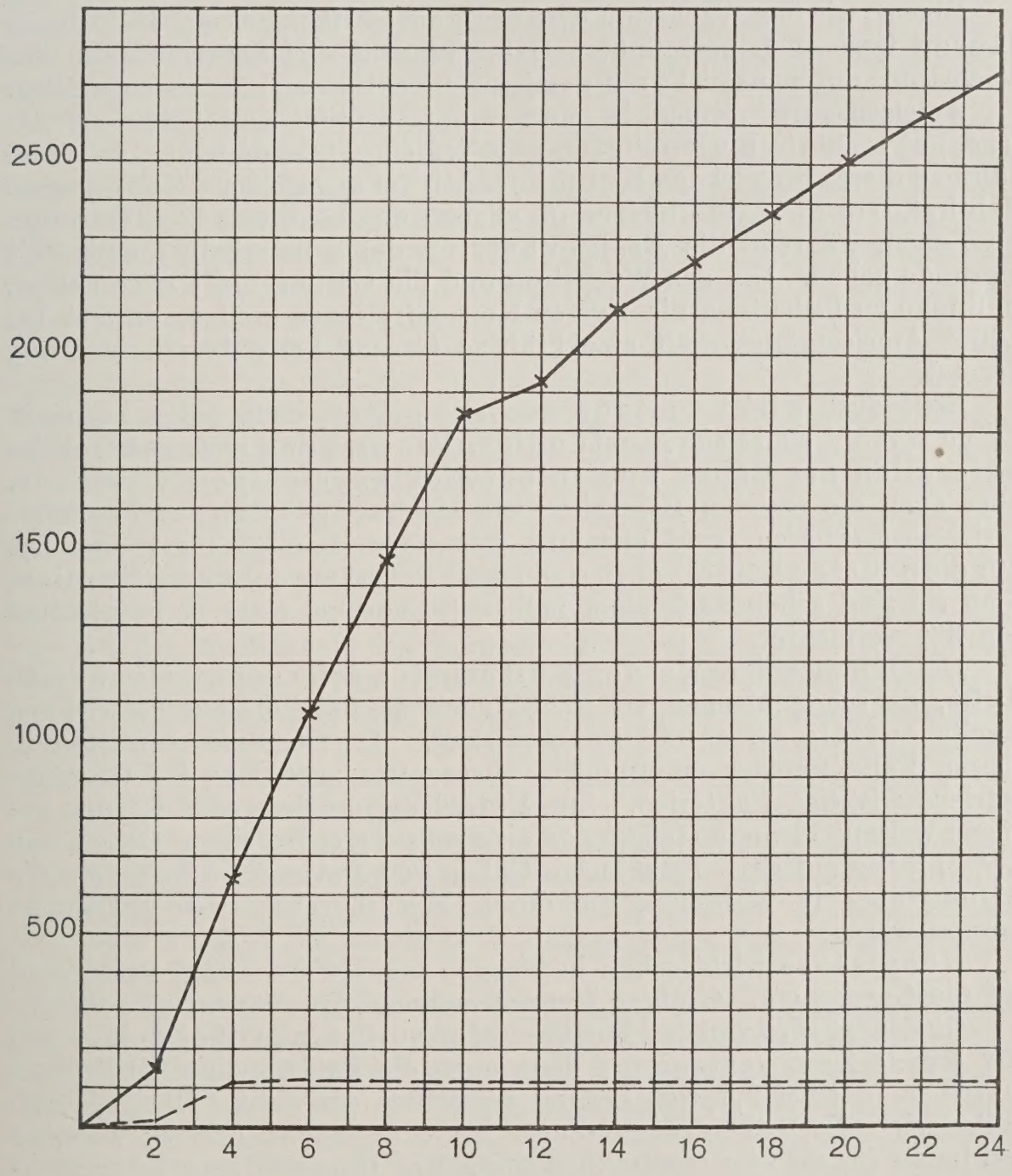


Fig. 92.

stellt, wie es in Figur 92 geschehen ist. Dort sind die Kohlensäuremengen auf der Ordinate und die Zeiten in Stunden auf der Abszisse aufgetragen. Die vollausgezogene Linie entspricht dem Verlaufe der Gärung hinsichtlich der abgegebenen Kohlensäuremenge im bestrahlten Versuch, während die gestrichelte Linie demjenigen in der unbestrahlten Kontrolle zukommt.

Die Untersuchung der Hefe ergab im bestrahlten Kolben glykogenarme und teilweise abgearbeitete und tote Zellen. Die Hefen der Kontrolle waren dagegen reich an Glykogen. Bei Bestrahlungsversuchen in Würze ergaben sich die gleichen Verhältnisse hinsichtlich der Gärungsbeschleunigung und des Zustandes der Zellen.

2. Wirkungen der Säuren auf die Gärung.

Ebenso wie das Wachstum wird auch die Gärfähigkeit der Hefe durch Säuren wesentlich beeinflußt. Dabei braucht das Säureoptimum des Wachstums durchaus nicht mit demjenigen der Gärung zusammenzufallen.

Ameisensäure vermag in einer Konzentration von 0,3% jugendliche, gut ernährte Kulturhefen selbst in einer Stunde nicht zu töten, während dieser Einwirkung Kahmhefen in der angegebenen Zeit erliegen. Milchsäurebakterien bleiben im allgemeinen bei dieser Konzentration am Leben, während die Essigbakterien dabei innerhalb kurzer Zeit zugrunde gehen. Um das Wachstum und die Gärung nicht aufzuhalten, muß man zu bedeutend niedrigeren Konzentrationen greifen, da erst bei 0,08% Ameisensäuregehalt eine kräftige Gärung bei guter Vermehrung einsetzt.

Essigsäure wirkt weitaus weniger giftig, denn selbst bei einer Menge von 3% sind nach einstündiger Einwirkung noch zahlreiche Hefezellen am Leben und in entwicklungsfähigem Zustande. Aber auch die meisten Bakterien, wie Milchsäure- und ganz besonders Essigsäurebakterien, sind ebenfalls sehr unempfindlich für Essigsäure. Nur die meisten Kahmhefen sind gegen Essigsäure sehr empfindlich, denn sie sind schon nach einer halben Stunde bei einer Konzentration von 3% vernichtet.

Durch **Buttersäure** werden Kulturhefen sehr nachteilig beeinflußt, da schon Mengen von 0,5% nach 1—1½stündiger Einwirkung bereits auffallend schädigend wirken. Die Kahmhefen sind in diesem Falle weniger empfindlich, ebenso wie zahlreiche im Gärungsbetriebe wichtige Bakterien. Zur Unterdrückung jedweder Gärung genügen weitaus kleinere Mengen, da eine solche erst bei einem Gehalt von 0,1% kräftig auftritt. Sehr kleine Gaben von Buttersäure befördern die Gärung aber in Maischen, die durch Milchsäurebakterien angesäuert worden waren.

Nonylsäure wirkt schon in Mengen von 0,005—0,02% verzögernd auf die Gärung ein. Größere Mengen hemmen den Gärprozeß vollends.

Oxalsäure wird von den Kulturhefen selbst in größeren Mengen für kurze Zeit vertragen, denn auch ein zweistündiger Aufenthalt derselben in einer 2,5proz. Lösung vernichtet sie nicht. Übrigens verhalten sich die Kahmhefen dieser Säure gegenüber ebenso, während Bakterien für sie sehr empfindlich sind. Bei länger dauernder Einwirkung selbst kleiner Oxalsäuremengen treten aber schwere

Schädigungen der Hefen auf, denn selbst nur etwa 0,2% bewirkte in Würze eine Unterdrückung der Gärung und eine Vernichtung der meisten Zellen.

Milchsäure tötet Kulturhefen bei einer Menge von 3% in 1½ Stunden noch nicht, sofern es sich um guternährte, im vollen Wachstum befindliche Zellen handelt. Das gleiche gilt wohl auch für die Kahmhefen. Mit Ausnahme der Milchsäurebakterien sind die Spaltpilze samt und sonders sehr empfindlich gegen diese Säure. Übrigens werden durch die oben angegebene Menge auch die Milchsäurebakterien in der genannten Zeit sehr stark geschädigt, da danach die meisten von ihnen sich als nicht mehr entwicklungsfähig erweisen. Die alkoholische Gärung wird durch verhältnismäßig ausgiebige Milchsäurezusätze noch nicht ungünstig beeinflußt, denn 0,9% lassen noch eine vollkommen kräftige Gärung bei guter Entwicklung zu. Um bei der Hefefabrikation und Brennerei unliebsame Infektionen durch Bakterien auszuschalten, säuert man ja immer mit Milchsäure die Maischen kräftig an oder sorgt für eine Entwicklung passender Milchsäurebakterien in denselben.

Weinsäure wird von Hefen in sehr großen Dosen ertragen, denn selbst ein Aufenthalt derselben durch 24 Stunden in einer 5proz. Lösung schädigt sie kaum und hemmt nur vorübergehend die Entwicklung, während wohl alle Bakterien bei dieser Konzentration nach dieser Zeit keine Entwicklung mehr zeigen. Gärung in Würze findet statt bei einem Gehalt derselben von 2% Weinsäure. Die Kahmhefen verhalten sich gegen Weinsäure wie die Kulturhefen.

Auch für **Zitronensäure** sind die Hefen wenig empfindlich, denn eine 5proz. Lösung tötet dieselben in 24 Stunden nicht vollständig. Gutes Wachstum und kräftige Gärung findet bei etwa 1% Zitronensäuregehalt statt, welche Menge genügt, bakterielle Infektionen zu unterdrücken.

Gegenüber den anorganischen Säuren verhalten sich die Hefen verschieden. Maßgebend dabei ist die Größe der Wasserstoffzahl p_H, da eine Beziehung zwischen der Konzentration der in der Lösung vorhandenen H-Ionen und der Gärgeschwindigkeit besteht. Außerdem muß bei der Beurteilung der Säureeinflüsse auf die Gärung und das Wachstum auf die Möglichkeit des Vorhandenseins von Puffern in der Gärflüssigkeit geachtet werden. Im allgemeinen stellt das wirksame Agens bei der Säurewirkung in den praktisch in Frage kommenden Konzentrationen das freie H-Ion vor. Im folgenden sei nur kurz auf die in der Gärtechnik wichtigeren anorganischen Säuren kurz hingewiesen.

Die Kultur- und Kahmhefen erweisen sich gegen Flußsäure und deren Salze außerordentlich empfindlich. Schon eine Menge von 0,04% tötet sie nach 2 Stunden und schädigt sie in noch kürzerer Zeit. Lösungen von 0,01% töten Hefe noch nicht in 24 Stunden. Noch viel empfindlicher als Hefen erweisen sich die meisten Bakterien mit Ausnahme der Milchsäurebakterien.

Für Salzsäure sind die Kulturhefen weniger empfindlich als die Kahmhefen und Bakterien. Erstere überdauern ein Einbringen in eine 0,72proz. Salzsäurelösung durch 2½ Stunden lebend. Gärung und Wachstum werden aber schon bei viel geringeren Konzentrationen gehemmt oder sehr ungünstig beeinflußt. So findet eine kräftige Gärung nur noch bei etwa 0,02% statt, bei welchem Gehalt ein Sterben der Hefezellen nicht eintritt und die Vermehrung gut ist.

Gegenüber Salpetersäure verhalten sich die Kultur- und Kahmhefen verschieden. Erstere sind entschieden widerstandsfähiger, da sie sich in geringer Anzahl selbst noch nach einem Aufenthalt von 2 Stunden in einer 1proz. Salpetersäurelösung lebend erhielten. Milchsäure- und Essigbakterien sind weitaus empfindlicher und sterben darin in wenigen Minuten ab. Gärung und Wachstum finden bei einer Menge von 0,06—0,03% noch ausgezeichnet statt. Auch die salpetersauren Salze sind im allgemeinen als gärungshemmend zu bezeichnen. Dabei erweisen sich die Nitrate des Kalziums und Magnesiums giftiger als die Alkalinitrate, von denen das Natriumnitrat wieder stärker wirkt als das Kaliumnitrat.

Gegenüber Schwefelsäure erweisen sich die Hefen auffallend wenig empfindlich, denn eine 2proz. Lösung tötet sie nur langsam. Bei einem Gehalt von 0,04% Schwefelsäure entwickeln sich die Hefen gut und erzeugen eine kräftige Gärung, während bei dieser Konzentration Infektionen der Hefe nicht mehr aufkommen können. Auch für schweflige Säure sind die Hefen wenig empfindlich.

Phosphorsäure wirkt auf Kulturhefen im allgemeinen ungünstiger ein als auf Kahmhefen. Mengen von 0,2—0,3% im Gärgut behindern die Gärung schon sehr bedeutend und heben das Wachstum der Hefe fast auf. Es finden sich in diesem Falle kaum mehr 5% der Hefezellen lebend.

In der Gärungstechnik sind von den Schwermetallsalzen in erster Linie die Kupfersalze von Bedeutung.

3. Wirkung von Kupfersalzen.

Kupfer gelangt in etwas größerer Menge meist in die Weinmaische, da bekanntlich zur Unterdrückung des durch Peronospora viticola erzeugten, sog. „falschen Mehltaues" der Rebenblätter eine Kupfer-Kalk-Brühe zur Anwendung kommt. Dieselbe stellt eine Auflösung von Kupfersulfat vor, in der das Kupfer durch Einbringen der entsprechenden Menge von Ätzkalk in basische Salze des Kupferhydroxydes übergeführt wird. Damit werden die Weinstöcke im Verlaufe des Frühjahres und Sommers mehr oder weniger oft bespritzt. Gewiß muß dadurch eine Änderung der Hefeflora und eine Verminderung der auf den Beeren wohnenden Hefezellen herbeigeführt werden, was die spätere Gärung dann in Frage stellen kann, wenn die letzte Bespritzung kurz vor der Ernte vorgenommen wird. Bei einem größeren Zeitintervall sind Störungen nicht mehr beobachtet worden. Wie Versuche ergeben haben, gelangt überdies nur ein verhältnismäßig nicht sehr großer Teil des auf den Beeren sitzenden Kupfers in den Most, da es sich um schwer lösliche Verbindungen handelt, die der Beerenhaut sehr fest ansitzen und beim Maischen und Pressen kaum zur Gänze heruntergescheuert werden. Aber selbst wenn es sich noch um beträchtlichere Mengen handeln würde, so wären im Endprodukt, dem Weine, doch nur höchstens Spuren zu finden, da einen Teil des Kupfers die Hefe selbst speichert und der andere Teil während des Gärprozesses in unlösliche Verbindungen übergeführt wird, die im Hefesatz oder Geläger zurückbleiben.

Im allgemeinen sind die Kulturhefen, wie auch die Kahmhefen, für Kupfersalze nicht sehr empfindlich und passen sich überdies auch an stärkere Konzentrationen ziemlich gut und rasch

an. Auch der allgemeine Ernährungszustand und die dargebotenen Nährstoffe haben einen wesentlichen Einfluß auf die Menge von Kupferverbindungen, die noch ertragen werden. Deshalb lassen sich auch keine allgemeingültigen Grenzzahlen angeben. Jedenfalls vermögen die in der Praxis vorkommenden Kupfermengen in keinem Falle die Gärung und das Hefewachstum wesentlich ungünstig zu beeinflussen.

4. Wirkung des Alkohols bei der Gärung.

Von größter praktischer Bedeutung ist **das Verhalten der Hefen gegen Äthylalkohol.** Auch in dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Saccharomycetenarten sehr verschieden, abgesehen von dem Einfluß, den die Ernährung der Hefe und äußere physikalische Faktoren, wie Bewegung und Temperatur, ausüben. Besonders die vorhandene Menge von Zucker ist für die Toleranz der Hefe gegenüber Alkohol von größter Bedeutung. Im allgemeinen kann man sagen, daß mit zunehmendem Zuckergehalt die Widerstandsfähigkeit der Hefe gegen Alkohol abnimmt, weshalb man in der Praxis in der Zuckerdarreichung nicht allzu hoch gehen darf.

Die Zellvermehrung wird nun sehr verschieden vom Alkohol beeinflußt. Es ist keineswegs gleichgültig, ob die hemmende Alkoholmenge in der Kultur langsam entsteht oder aber in die bisher alkoholfreie Nährflüssigkeit, in der sich die Hefen befinden, gleich in großer Menge eingetragen wird. Im ersteren Falle ertragen die Zellen viel geringere Mengen, und meist wird das Wachstum schon beim Erreichen einer Menge von 2 Vol.-Proz. wesentlich abgeschwächt und die Vermehrung sehr verlangsamt, die bei 6 Vol.-Proz. gänzlich stille steht. Innerhalb kurzer Zeit, etwa in 30 Stunden, ist der Moment erreicht, in dem sich die hemmende Wirkung des gebildeten Alkohols bereits deutlich ausprägt. Da setzt auch die sog. „wallende Gärung" ein, während der der Preßhefefabrikant die Hefe erntet, da es ihm ja auf eine möglichst große Hefeausbeute ankommt. In der Brennerei dagegen kommt es darauf an, das Hefewachstum möglichst einzuschränken und für einen großen Vergärungsgrad zu sorgen, um die Alkoholausbeute zu vergrößern.

Will man nun das Wachstum und die Vermehrung der Hefe, die in guten, alkoholfreien Nährsubstraten wächst, durch hohe Alkoholgaben unterdrücken, so muß man zu bedeutend höheren Konzentrationen seine Zuflucht nehmen. In den meisten Fällen wird eine Menge von ungefähr 10 Vol.-Proz. notwendig sein, um das Wachstum zu hemmen. In vielen Fällen sind aber noch weitaus größere Alkoholmengen nötig, die beispielsweise bei der Sakè-Hefe 24% erreichen. Dieses Verhalten der in alkoholfreien Nährmedien sich kräftig und gesund entwickelnden Hefezellen gegen später zugesetzte große Alkoholmengen zeigt deutlich, daß bei der alkoholischen Gärung die Hefe selbst in arge Mitleidenschaft gezogen wird und sich dabei niemals zu so widerstandsfähigen Vegetationen entwickelt wie beim alkoholfreien Wachstum.

In gärenden Flüssigkeiten steht die Gärung viel später still als die Vermehrung. Besonders gewisse Weinhefen gären noch lange nach Einstellung der Vermehrung weiter.

Von wesentlichem Einfluß auf die Menge des bei der Gärung entstehenden Alkohols und dessen hemmende Wirkung auf die Gärung selbst ist die Temperatur, bei der gezüchtet wird. Unter sonst identischen Ernährungsverhältnissen steigt die hemmende Wirkung des Alkohols mit zunehmender Temperatur sehr rasch an, wie aus den Untersuchungen Müller-Thurgaus klar hervorgeht. Folgende kleine Zusammenstellung läßt diesen Einfluß der Temperatur klar erkennen:

Gärungsstillstand trat ein, sobald bei der angegebenen Temperatur folgende Alkoholmengen gebildet worden waren:

Temperatur:	Gewichts-Prozente Alkohol:
36° C	3,8
27° C	7,5
18° C	8,8
9° C	9,5.

Die Praxis hat danach schon lange gearbeitet, denn die Bierbrauer pflegten im Bottich zu Beginn der Gärung bei höherer Temperatur zu arbeiten und gingen später herab, wodurch zuerst eine kräftige Zellvermehrung und später eine genügende Alkoholbildung bei lebenskräftiger Satzhefe erreicht wurde.

Die Hefen passen sich langsam auch einem größeren Alkoholgehalt an. Dieses Anpassungsvermögen ermöglicht auch eine Auslese von Hefen für die verschiedenen technischen Gärbetriebe, die eben die für den bestimmten Fall sich gut eignende Hefe noch weiter veredeln.

Gegenüber anderen Alkoholen, mit Ausnahme des Methylalkohols mit dem niedersten Kohlenstoffgehalt, sind die Hefen weniger widerstandsfähig. Im allgemeinen wirken dieselben um so mehr gärungshemmend und giftig, je mehr Kohlenstoffatome sie im Molekül besitzen. Die gärungs- und wachstumshemmenden Eigenschaften derselben dürften auf ihre Wirkung als oberflächenaktive Substanzen in erster Linie zurückgehen. Die gärungshemmende, bzw. verzögernde Kraft ist z. B. beim Oktylalkohol sehr beträchtlich und liegt zwischen 0,017—0,04%.

5. Wirkung der Kohlensäure.

Ein zweites in reichlicher Menge bei der alkoholischen Gärung auftretendes Gärprodukt ist die **Kohlensäure.** Wenn sich dieselbe in größerer Menge im Nährboden oder in der gärenden Flüssigkeit ansammelt, so wirkt sie deutlich hemmend auf das Wachstum und auf die Gärung. Sie ist es aber auch, die dadurch fördernd auf die Vermehrung und Gärung einwirkt, daß sie in der gärenden Flüssigkeit eine Bewegung der Zellen herbeiführt und so für eine gleichmäßige Verteilung der Stoffwechselprodukte sorgt. Die am Boden liegende Hefezelle wird in der Flüssigkeit durch das von ihr gebildete Kohlensäurebläschen in die Höhe gehoben. An der Oberfläche angelangt, entweicht das Bläschen, und infolge der Schwere sinkt die Zelle wieder allmählich zu Boden. Dadurch wird sie immer von noch nicht oder nur wenig ausgenutzter Nährlösung umspült, wodurch die

Ernährungsverhältnisse außerordentlich günstig und die um die Zelle abgegebenen Stoffwechselprodukte sofort verteilt werden.

6. Grundlagen der technischen Hefeverwendung.

Die Verwendung der entsprechenden Hefe, die Ausschaltung fremder Infektionen im Gärgut und die Gärführung selbst regelt sich nach den Eigenschaften der angewendeten Hefe und dem angestrebten Gärprodukt.

Die Bierherstellung geschieht entweder in untergärigen oder in obergärigen Brauereien.

Bei der untergärigen Brauerei ist die Zellvermehrung in dem Gärbottich gering, da, abgesehen von dem geringeren Sprossungsvermögen der untergärigen Hefen, die niedrige Gärtemperatur die Vermehrungsgeschwindigkeit herabsetzt. Man muß also von Haus aus eine große Menge von Anstellhefe benutzen, also reichlich Hefezellen in die Würze einbringen. Dadurch erreicht man gleich zu Anfang eine genügende Bewegung der gärenden Würze, während, wie schon gesagt, die Vermehrung gering bleibt, was wieder günstig auf die Bruchbildung wirkt. Die Bruchhefe besteht dann aus älteren Zellen, die gut aneinander haften und ein klares Gärprodukt zur Folge haben. Würde sich reichlich junge Hefe bilden, so hätten wir die sog. „Staubhefe", die in der ganzen Flüssigkeit verteilt bleibt. Die geringe Vermehrung setzt auch den Verbrauch von Bierextrakt in erwünschter Weise sehr herab. Weiter wählt man die tiefe Gärtemperatur bei 6—12° C im Bottich und 1—4° C im Lagerfaß deshalb, um die Vermehrung und damit den Stoffwechsel möglichst zu beschränken, wodurch die unerwünschten Stoffwechselprodukte der Hefe ebenfalls auf das geringste Maß herabgedrückt werden und der Zuckervorrat für die lange Nachgärung reicht. Es sammelt sich auch so eine größere Menge gelöster Kohlensäure an, das Bier wird klar und die Hefe setzt sich gut ab. Dadurch wird auch der Verlust beim Abziehen des Bieres aus dem Bottich kleiner. Bei der untergärigen Brauerei lüftet man nur soviel, als für das Leben der Hefe unbedingt notwendig ist. Die Einschränkung kann schon deshalb ziemlich weit gehen, da ja die Würze beim Kühlen reichlich Sauerstoff aufnimmt. Ein Zuviel der Lüftung würde eine zu rege Zellvermehrung anregen und überdies die Kohlensäure abführen und auch Infektionen begünstigen, abgesehen von einer Erschwerung des Absetzens der Hefe. Die natürliche Bewegung der gärenden Würze in dem Bottich ist gering und tritt spät auf, da anfangs die von den Hefezellen gebildete Kohlensäure rasch in der Flüssigkeit gelöst wird. Im allgemeinen ist die Anwendung künstlicher Bewegung nur sehr beschränkt.

Bei der **obergärigen Brauerei** arbeitet man mit weniger Anstellhefe, weil die hier in Betracht kommende Hefe ein größeres Vermehrungsvermögen besitzt und die höhere Gärtemperatur zwischen 8 und 25° C auch eine stärkere Hefevermehrung verbürgt. Die Hefe soll hier die Gärung ohne Schonung der Nährmaterialien und des Zuckers rasch durchführen. Es bildet sich kein Satz, sondern die ganze Hefe sammelt sich auf der Oberfläche an und wird dort abgeschöpft. Die Kohlensäuresättigung des obergärigen Bieres geschieht erst bei der Nachgärung in der Flasche. Im allgemeinen sorgt man auch für eine etwas bessere Luftzufuhr und verstärkt die Bewegung etwas mehr als bei der untergärigen

Brauführung. Infektionen werden schon dadurch vermieden, daß der rasch in großer Menge gebildete Alkohol ein Aufkommen von Bakterien hintanhält.

Von wesentlich anderen Gesichtspunkten geht man bei der Gärführung in der **Brennerei** aus. Hier handelt es sich um die Gewinnung einer möglichst großen Alkoholmenge. In der Praxis überträgt man die Hefe nicht wie bei der Brauerei von Gärbottich zu Gärbottich, sondern bereitet zuerst eine Kunsthefemaische, mit der dann die Hauptmaische angestellt wird. In beiden Fällen findet die Bestellung mit bereits in Gärung begriffener „Mutterhefemaische" statt. Die Hefemaische erhält eine große Aussaat, damit sich die Hefe nicht allzu stark vermehrt und rasch angärt, um Fremdinfektionen nach Möglichkeit auszuschalten. Unterstützt wird die Reinhaltung der Gärung noch wesentlich durch die Verwendung eines angesäuerten Hefegutes. Die Hauptmaische wird nun mit einer verhältnismäßig geringen Menge angestellt, um eine allzu stürmische Gärung zu verhindern. In der zuckerreichen Maische wird die Gärung bei hoher Temperatur durchgeführt, so daß sehr rasch eine üppige Zellvermehrung und kräftige Gärung einsetzt. Diese wird noch durch eine künstliche Bewegung mit Triebwerken beim Maischen und Kühlen gefördert, wodurch eine ausgiebige Durchlüftung erreicht wird. Nur so ist es möglich, selbst sehr zuckerreiche Maischen innerhalb sehr kurzer Zeit ohne größere Verluste ganz zu vergären. Während der Gärung selbst ist eine künstliche Bewegung nicht mehr notwendig, da sich die kräftig zirkulierende Maische fortwährend an der Oberfläche neu mit Luft beladet.

Wieder anders wird in der **Lufthefefabrikation** verfahren. Dabei sucht man möglichst große Mengen triebfähiger Hefen zu gewinnen. Man geht dabei von nicht sehr zuckerreichen Maischen aus, die mit großen Mengen von Hefen angestellt werden im Vergleich zur vorhandenen Zuckermenge. Die Menge der Anstellhefe muß aber als klein bezeichnet werden, sofern man die Hefeernte der Rechnung zugrundelegt. Es kommt dabei auch nicht auf eine kräftige Alkoholbildung an, da hier der Alkohol nur die Bedeutung eines Nebenproduktes hat. Deshalb sucht man auch durch höhere Temperaturen die Gärung einzuschränken. Da erfahrungsgemäß eiweißreiche Hefen gute Triebkraft aufweisen, so muß in den Maischen eine reichlichere Menge brauchbarer Stickstoffverbindungen vorhanden sein. Zur Anregung eines besonders guten Wachstums wird die Würze während der ganzen Gärdauer durch Durchleiten eines Luftstromes durchlüftet und bewegt. Um eine möglichst bakterienfreie Gärung zu erreichen, ist es notwendig, als Anstellhefe nur Reinkulturen zu verwenden und die Gärdauer auf ein Minimum herabzudrücken.

E. Biologie der Hefe.

In der freien Natur sind die Hefen außerordentlich weit verbreitet. Ihre Hauptwohnstätte ist die Erde, in der sie sich in den oberen Partien bis etwa 30 cm tief ansiedeln. Der oberflächliche Staub, vom Winde getragen, zerstreut sie über die weiteste Erdoberfläche. Die grundlegenden Untersuchungen Emil Christian Hansens und anderer haben uns über die Biologie der Hefen in der freien Natur ein anschauliches Bild geliefert. Was für die wenigen unmittelbar untersuchten Arten ge-

funden wurde, kann in diesem Falle wohl mit gutem Grunde bei einiger Vorsicht verallgemeinert werden. Die ersten Versuche beziehen sich auf die kleine, zitronenförmige Weinhefe, Saccharomyces apiculatus. Dieselbe findet sich auf reifenden und reifen Weinbeeren und Beerenobst überhaupt in sehr reichlicher Menge. Außerdem beherbergt die Erde unter diesen Pflanzen ebenfalls diese Hefe. In der weiteren Umgebung von denselben und auch auf den unreifen Beeren wird sie nur ausnahmsweise und dann in geringerer Menge angetroffen. Speziell in der Erde hängt ihre Menge wesentlich von der Jahreszeit bzw. von der Größe der verflossenen Zeit seit der Beerenreife ab. Durch Insekten und durch den Wind gelangt die Hefe auf die reifen Früchte. Dort entwickelt sie sich reichlich und zeigt sehr gute Vermehrung besonders in den Rissen und Sprüngen der Beeren, wo für sie ein ausgezeichneter Nährboden ist. Von dort trägt sie der Wind weiter und spült sie der Regen herunter, wodurch ansehnliche Mengen dieser Hefe wieder in die Erde gelangen und speziell in jene Teile, die sich unmittelbar unter der Pflanze befinden. Auch mit den verletzten und daher abfallenden Beeren kommt sie in sehr großer Menge auf den Boden. Aus diesem Grunde kann man zur Zeit der Reife und unmittelbar nachher auch die größten Hefemengen in dem Boden nachweisen. Später werden die Hefemengen immer kleiner und erreichen ihr Minimum zur Zeit der nächsten beginnenden Beerenreife, um von da ab wieder anzusteigen. Wenn unter günstigen Bedingungen sicher eine ausgiebigere Vermehrung auch noch im Boden statthat, so kann als ausschlaggebende Vermehrungsstätte in der Natur für die genannte Hefe doch die reife Beere angesehen werden, während als ständiger Aufenthaltsort die unter der Pflanze befindliche Erde dient. Die Apikulatushefe hat also ihre Vermehrungsstätte auf reifen, wasserreichen Früchten, wie Kirschen, Pflaumen, Stachelbeeren, Johannisbeeren, Erdbeeren, Weinbeeren usw. Ihre ständige Wohnstätte ist aber der Erdboden, in dem sie auch überwintert. Die Hefe legt so in der freien Natur eine Art von Kreislauf zurück, in dem sie vom Boden auf kurze Zeit behufs kräftiger Vermehrung auf die reife Frucht gelangt und von dort wieder zurück zur Erhaltung der Art in die Erde kommt.

Die größeren Hefen vom Ellipsoideus- und Pastorianustypus sind viel weiter verbreitet, finden sich aber dichter gedrängt in der nächsten Umgebung der Gärten und überhaupt des Kulturlandes, das mit Obst usw. bepflanzt ist. Daß sie weit über die Erde verbreitet sind, verdanken sie ihrer großen Widerstandskraft gegen Austrocknung, über welche die Apikulatushefe nur in geringerem Grade verfügt. Die normalen Brutstätten sind auch hier immer die reifen Früchte, während die abgefallenen Früchte und ihre zufälligen Extrakte, Exkremente von Tieren, kleine Wasseransammlungen usw. nur als sekundäre und mehr nebensächliche Vermehrungsstätten für die Hefe in Betracht kommen.

Interessant ist in der Hefebiologie die auch heute nicht restlos aufgeklärte „Biosfrage". Es wurde schon früher betont, daß Ammoniumsalze, z. B. Ammonchlorid und Asparagin, nur sehr minderwertige Stickstoffquellen für die Mehrzahl der Hefen vorstellen. 1901 hat Wildiers festgestellt, daß in mineralischer Nährlösung unter Zuckerzugabe als besondere Kohlenstoffquelle nur dann ein Wachstum der Hefezellen eingetreten ist, wenn eine reichliche Einsaat vorgenommen worden

ist. Wurden nur eine oder wenige Zellen in eine solche Nährlösung, die in 200 ccm Wasser 20 g Zucker, je ½ g Kaliumchlorid, Ammoniumchlorid, Magnesiumsulfat und Dinatriumphosphat und 0,1 g Kalziumkarbonat enthielt, eingeimpft, trat überhaupt keine Entwicklung ein. Unter diesen Umständen bildete sich auch kein Hefefleck aus, wie man jene schon makroskopisch sichtbare Zusammenlagerung von Hefezellen nennt, die dadurch zustandekommt, daß bei der Einsaat einer einzigen Zelle in der ruhenden Nährflüssigkeit um diese Zelle herum am Boden des Gefäßes sich die entstehenden Hefezellen ansammeln. Die Zugabe kleiner Mengen einer Abkochung von Hefezellen regte aber sofort das Hefewachstum selbst bei geringster Aussaat an. Der Hefeextrakt enthielt also eine Substanz, die zur Entfachung der Hefevermehrung in mineralischen Nährlösungen bei kleinster Einsaat unbedingt erforderlich war. Wildiers nannte diese unbekannte, sicher leicht wasserlösliche Substanz „Bios". Dieser eigenartige Körper ist nicht nur in der Hefe und deren Auszügen, sondern auch in Peptonen und anderen komplizierten, den Hefen gut zugänglichen Stickstoffquellen vorhanden, denn in wenig Pepton enthaltenden mineralischen Nährlösungen entwickelt sich auch bei Einsaat einer einzigen Zelle ein Hefefleck, und es entsteht eine normal gärende und wachsende Kultur. Die Wildiersschen Befunde über das Bios und über das Nichtentwickeln von Kulturen beim Fehlen desselben haben von mehreren Seiten eine Bestätigung erfahren. Man hat auch an schädigende Verunreinigungen in den mineralischen Nährlösungen oder im zugesetzten Zucker gedacht und gemeint, daß oligodynamische Wirkungen zufällig eingeschleppter kleiner Schwermetallsalzmengen dabei wachstumshemmend im Spiele seien. Danach käme dem Bios die Eigenschaft zu, als Gegengift gegen solche Metallwirkungen zu fungieren. Andererseits erklärte Pringsheim die Erscheinung des Wachstums der Hefe in mineralischer Nährlösung bei größerer Einsaat damit, daß organisch gebundene Nährstoffe aus absterbenden Zellen frei würden, was bei zu kleiner Einsaat zu sehr in den Hintergrund tritt. Neumann neigt der Ansicht zu, daß die wenigen eingebrachten Zellen in dem verhältnismäßig ungünstigen Nährboden als Anstoß zur Weiterentwicklung eine geringe Menge gut verwertbarer Nährstoffe bedürfen, wie etwa zum ersten Anlassen ein Schwerölmotor Leichtbenzin benötigt, um, damit in Gang gebracht, nun auch weiter das Schweröl verarbeiten zu können.

Auffallend sind die übereinstimmenden mikroskopischen Befunde an den eingesäten Zellen, die infolge Mangels an Bios nicht zur Fortpflanzung gelangen. In ihnen werden stark lichtbrechende Einschlüsse, Granula, Fettkörner und Öltröpfchen beschrieben. P. Lindner hat in letzter Zeit hinsichtlich des Biosproblems eine sicherlich sehr viel für sich habende Erklärung gegeben. Er geht dabei von der Tatsache aus, daß der in der Hefezelle bei der Gegenwart eines gärfähigen Zuckers entstehende Alkohol nur bei Luftabschluß rasch aus derselben austritt. Sobald der Luftsauerstoff zur Zelle Zutritt hat, bleibt der Alkhohol in derselben und wird zu einem Nährstoff, indem aus ihm der Fettaufbau erfolgt. Bei sehr geringen Hefeeinsaaten in die mineralische Nährlösung sind die Zellen, ohne daß sie sich überhaupt vermehren, alsbald mit Fettgranula durchsetzt, weil die Nährlösung reichlich Luft enthält und überdies die ganze Versuchszeit über Luft nachaufnehmen kann. Es kann sogar zu einer Überfettung kommen, wenn der gebildete Alkohol zur

Gänze in Fett umgewandelt wird. Anderseits ist die Vermehrung bzw. Sprossung bei der Darreichung schwer assimilierbarer Stickstoffquellen, wie es die mineralischen für die Hefe in der Tat sind, an sich behindert und verlangsamt und durch die gleichzeitige Verfettung nur noch mehr gehemmt. Man könnte fast sagen, der Aufbau der zur Sprossung notwendigen Eiweißkörper aus den mineralischen Stickstoffverbindungen wird von der Fettbildung mächtig überflügelt. Daher bleibt schließlich die Vermehrung gänzlich aus.

Sobald mehrere oder gar viele Zellen als Einsaat nebeneinander liegen, tritt alsbald Sauerstoffmangel auf; der gebildete Alkohol wird aus der Zelle abgegeben und daraus kein Fett gebildet, und allmählich setzt die Sprossung ein. Außerdem ist zu bedenken, daß schon sehr geringe Mengen einer passenden, leicht assimilierbaren Stickstoffverbindung in einer Nährlösung genügen, um ein Wachstum zu unterhalten. Selbst ein kleiner Zusatz von Hefeextrakt bringt schon eine für den notwendigsten Bedarf von Mikroorganismen genügende Menge sehr brauchbarer Verbindungen in die Nährlösung hinein. Bei reicher Einsaat sind die mit eingebrachten toten Zellen bereits die Lieferanten tauglicher Verbindungen, die die Nährlösung aus ihnen herauslöst. Damit ist wie durch den Zusatz des Hefeextraktes die Wachstumsgrundlage gegeben.

Es erscheint nach diesen Überlegungen die Annahme eines besonderen, die Vermehrung erst anregenden Stoffes, als welchen das Bios gilt, eigentlich überflüssig.

In der Biologie der Hefe spielt auch die Anpassungsfähigkeit eine Rolle. Die einzelnen Hefearten erweisen sich in bezug auf die Stickstoffnahrung wählerisch und bevorzugen meist die komplexen höheren Verbindungen. Immerhin zeigen sie in Hinsicht der brauchbaren Stickstoffquellen eine gewisse Anpassung. Der Grad dieses Anpassungsvermögens weist aber bei den einzelnen Saccharomycesarten bemerkenswerte Unterschiede auf. So haben Versuche mit einigen Hefen dargetan, daß sie sich in bezug auf die Stickstoffnahrung an mindere Stickstoffquellen, wie es eben die Ammoniumsalze sind, ziemlich weitgehend anpassen können, während andere Hefen dabei vollends versagen. Es sei hier nur an die Untersuchungen Henrys erinnert, der Entwicklung und Vermehrung verschiedener Hefearten in der Wildiersschen Nährlösung nach Eintragung von etwa drei Tropfen Würzekultur erhielt. Verimpfte er dann von der neuentstandenen Kultur in eine weitere, sterile mineralische Nährlösung, so stellte sich bei einer Einsaat von fünf Tropfen schon weitaus besseres Wachstum ein als das erstemal. Auch die Pringsheimschen Versuche zeigen ein gleiches Verhalten von Hefen bei der Weiterzucht in mineralischen Nährlösungen. Während die in Most vorgezüchteten Hefen bei der Überimpfung von einer Platinose voll in Wildiersche Nährlösung sich erst in 14 Tagen merklich vermehrten und Gärung hervorbrachten, zeigten die aus der genannten Nährlösung in dieselbe weiterverimpften Saccharomyceten bereits nach 4 Tagen Vermehrung. Allerdings werden von anderen Seiten Anpassungsmöglichkeiten an mineralische Nährlösungen für andere Arten in Abrede gestellt. Diese divergierenden Befunde dürften aber weniger ihren Grund in etwa unterlaufenen Versuchsfehlern haben als vielmehr in der Verschiedenheit des verwendeten Hefematerials.

Anhang zur Physiologie der Hefe.

1. Kahmhefen und Torularten.

Wir haben uns bisher in erster Linie mit der Physiologie und Biologie der sogenannten Kulturhefen befaßt, mit denen alle Gärungsbetriebe arbeiten. Neben Bakterien kommen aber auch wilde Hefen und Kahmhefen ganz besonders als gefürchtete Schädlinge in Betracht. Unter ihnen finden sich zahlreiche, echte Saccharomyceten, die sich also durch Sprossung und Sporenbildung vermehren, und Nichtsaccharomycyten, die sich nur durch Sprossung vermehren. Letztere umfassen die echten Mykodermen, die keine alkoholische Gärung zu erregen vermögen, und die Torulaceen, die wir später etwas genauer kennen lernen wollen.

Durch das mikroskopische Bild allein ist eine Unterscheidung der Mykodermen von den Saccharomyceten meist kaum mit Sicherheit möglich. Die Form der Mykodermen ist sehr variabel und abhängig von Kultureinflüssen, was auch in vollem Umfange für ihre Größe gilt. Mittelwerte für letztere kann man mit Will mit 9 μ für die Länge und 5 μ für die Breite angeben. Die Zellform ist entweder eine längliche, ovoide oder eine kreisrunde, mitunter sieht man aber auch halbmondförmige und birnenförmige Gestalten. Besonders bei reichlichem Zutritt der Luft, also des Sauerstoffes, haben die Zellen in ihrer Form einen hefeartigen Charakter, während bei Luftmangel eine myzelartige, strangförmige Gestalt vorherrscht. Die jungen Mykodermazellen besitzen meist eine sehr dünne, mäßig lichtbrechende Zellhaut, während die alten Zellen sehr dicke Wände aufweisen. Der Zellinhalt der Mykodermen scheint aus einem sehr wasserreichen Protoplasma zu bestehen, das sowohl Glykogen, als auch Fett in verschiedenen Mengen speichert. In den jungen Zellen gewahrt man mehrere Vakuolen, die später zu einer einzigen größeren verschmelzen, in der bei alten Zellen Kristalloide zur Ausbildung gelangen. Im ganzen und großen finden wir also gegenüber den Saccharomycetenzellen keine sehr tiefen Unterschiede in den morphologischen Charakteren.

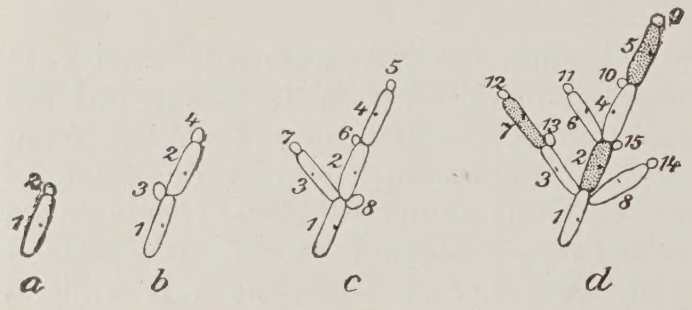


Fig. 93.

Die Vermehrung geschieht ausschließlich durch Sprossung, die im Detail ebenso verläuft, wie bei der Hefe. In Reinkulturen in Würze oder Traubensaft kann man unter dem Mikroskop sehr gut die Entwicklung des Sproßverbandes verfolgen, wie es auch aus der Figur 93 zu entnehmen ist, die der Abhandlung Meißners über Mykoderma im Handbuche der technischen Mykologie von Lafar entnommen ist. Diesem Autor folgend, verläuft die Bildung des Sproßverbandes folgendermaßen:

„Sobald die Tochterzelle 2 (Figur 93 *a*) fertig gebildet ist, sproßt sie (*b*) in der Richtung der Längsachse weiter, während die Mutterzelle seitlich von der Stelle, an der sie vorher die Tochterzelle 2 sprossen ließ, eine neue Tochterzelle 3 anlegt. Nachdem diese neu angelegten Tochter-

zellen ausgewachsen sind, sprossen sie (*c*) in der Richtung ihrer Längsachsen weiter, während die früheren Mutterzellen wieder seitlich sprossen (*d*). Der Sproßverband sieht schließlich, um ein Bild zu gebrauchen, etwa so aus, wie eine Tanne, bei der der Mitteltrieb und die angelegten Seitentriebe in der einmal eingenommenen Längsrichtung weiterwachsen, sich aber von Jahr zu Jahr regelmäßig verzweigen.“ Zur Abbildung 93 *d* sei nur noch bemerkt, daß die Zellen 2, 5 und 7 mit einer Lufthülle umgeben sind.

Auf festen Nährsubstraten, wie Würzegelatine oder Agar, entstehen kugelige Kolonien, wie sie von Hefen sonst erzeugt werden. In bezug auf die Riesenkolonien herrscht aber eine ziemliche Mannigfaltigkeit. Wir verstehen unter Riesenkolonien nach P. Lindner Kolonien, die aus vielen Zellen einer Art, welche in einem Tröpfchen auf die Mitte der Oberfläche von einer dicken Nährgelatineschicht aufgebracht worden sind, nach längerer Zeit entstehen.

Die Mykodermen sind sehr luftliebende Organismen und siedeln sich immer an der Oberfläche von Flüssigkeiten an, die für sie einen guten Nährboden abgeben, wie Bier, Wein, Trauben- und Obstsäfte usw. Dort bilden sie reichlich luftführende Decken, die die ganze Oberfläche in kürzester Zeit überziehen. Eben der Umstand, daß sich in der Decke und an den Zellen zahllose Luftbläschen festsetzen, ermöglicht nach den Untersuchungen Meißners das Verbleiben der Decken an der Oberfläche.

In bezug auf die Ernährung sind die Mykodermen ziemlich anspruchslos. Bei ihrem Wachstum können sie eine Reihe von organischen Säuren aufzehren und auch mehr oder minder kräftig Säure bilden. Beide Prozesse können in der Kultur nebeneinander gleichzeitig ablaufen. Hält sich die Säureabnahme und -zunahme das Gleichgewicht, dann wird keine Änderung in der absoluten Säuremenge zur Beobachtung gelangen, obwohl sich die Qualitäten der Säuren verschoben haben. Es kann auch zu einer völligen Entsäuerung der Nährflüssigkeit kommen, wenn die betreffende Mykodermenart unter den herrschenden Bedingungen überhaupt nicht Säure produziert. Die Untersuchungen Meißners über die Tauglichkeit verschiedener organischer Säuren für die Ernährung von Mykodermen haben ergeben, daß ein und dieselbe Säure für manche Mykodermarten ein sehr ausnutzbarer Nährstoff ist und für andere wieder ein schlechter oder überhaupt keiner. Jedenfalls spielen dabei aber noch andere Begleitumstände mit, wie die Art der Stickstoffquelle, die Züchtungstemperatur u. a. m. Apfelsäure diente beispielsweise einigen Mykodermen als guter Nährstoff und wurde stark angegriffen, während andere Arten sie verschmähten oder nur wenig davon verzehrten. Weinsäure wird im allgemeinen sehr wenig angegriffen, während Milchsäure in den meisten Fällen ein ausgezeichneter Nährstoff ist. Zitronen- und Bernsteinsäure erweist sich in dieser Hinsicht wieder sehr verschieden, werden also von manchen Arten stark angegriffen, von anderen wieder fast gar nicht. Das Gleiche gilt für Essigsäure, die mitunter in großen Mengen als Nährstoff dient.

Bei ihrem Wachstum erzeugen die Mykodermen meist reichlich flüchtige Säuren, die sich schon durch ihren Geruch verraten. In vielen Fällen handelt es sich dabei um Buttersäure, mitunter um Ameisen- und Essigsäure. Daneben entstehen in den Kulturen auch

mehr oder minder große Mengen von fixer Säure, über deren Qualitäten wir noch wenig wissen. Die Säurebildung geht wohl meist auf in der Lösung vorhandene Kohlehydrate zurück. Die Mykodermen greifen auch die meisten Zucker an und bauen sie tief ab, mitunter bis zu den einfachsten Verbindungen, also Wasser und Kohlensäure. Auch der Äthylalkohol wird kräftig bis zu Wasser und Kohlensäure oxydiert, also völlig zerstört. Glyzerin wird ebenfalls angegriffen, in vielen Fällen aber beim Wachstum auch gebildet.

Die Gruppe der **Torulaceen** ist heute noch keineswegs streng zu umgrenzen. In dieselbe sollen vorläufig nicht sporenbildende Sproßpilze aufgenommen erscheinen, die in der Regel mit kugeliger oder ovaler Gestalt wachsen, nur selten ausnahmsweise längere Zellformen bilden und ein Gärvermögen besitzen oder nicht. Sie bilden die erste Untergruppe der Torulaceen. Die zweite Untergruppe der Torulaceen setzt sich aus jenen Sproßpilzarten zusammen, die zwar ebenfalls keine Sporen bilden, aber doch eine Vielgestaltigkeit der Zellen aufweisen, wie Mykodermen, sich aber durch ihr Gärvermögen von letzteren unterscheiden. In der Natur sind die Torulaarten sehr weit verbreitet und hausen auf allen möglichen organischen Substanzen und auch in den verschiedensten Wasserläufen und stehenden Wässern, wie zahlreiche Wasseruntersuchungen es zeigen.

Die Form der Torulaarten der ersten Untergruppe ist meist kugelig oder oval und unterliegt keinen so weitgehenden Veränderungen wie bei den Mykodermen. Besonders gleichartig sind die Zellen in jungen Kulturen, während man in alten auch länger gestreckte und wurstförmige Zellen findet. In solchen Kulturen stellen sich auch Riesenzellen ein, wie wir sie bei den Saccharomyceten kennen gelernt haben. Viel mannigfaltiger ist die Form der Vertreter der zweiten Untergruppe, bei denen sich alle möglichen Formen vorfinden, wie Spindelzellen, keulenförmige Gestalten und myzelähnliche, äußerst langgestreckte Gebilde. Diese langen Formen entstehen meist in den Hautvegetationen an der Oberfläche von Flüssigkeiten, wie wir es bei den Saccharomyceten bereits kennen gelernt haben.

Der Zellinhalt besteht aus einem in der Regel wenig lichtbrechenden Protoplasma, das in jugendlichen Zellen einen homogenen Charakter aufweist. In der Folge wird es vakuolisiert, und später fließen bei den runden Formen die kleinen Vakuolen in eine einzige große Vakuole zusammen oder in den längeren Zellen zu wenigen größeren. Granula und Körnelungen mit stärkerem Lichtbrechungsvermögen zeigen sich erst bei alten Zellen. Besonders auffallend und geradezu typisch für die Torulaarten der ersten Untergruppe sind die Ölkörperchen, die sich in der runden Zelle in der Regel in der Einzahl finden. Die Form des Ölkörperchens, besonders gut in der Hautvegetation sichtbar, ist plattgedrückt oder mehr kugelförmig. Im Plasma wird meist Fett in einem großen Tropfen abgeschieden und mehr oder minder reichlich, entsprechend den Ernährungsbedingungen, Glykogen gespeichert. In den Vakuolen findet man regelmäßig krystalloide Ablagerungen. Obwohl eingehendere Untersuchungen über einen Zellkern der Torulaceen nicht vorliegen, so ist ein solcher in denselben jedenfalls anzunehmen.

Die Vermehrung der kugeligen Torulazelle findet ausschließlich durch Sprossung statt, die an jeder Stelle der kugelförmigen Zelle eintreten kann. Es entstehen auch mehr oder minder weit ausgedehnte Sproßverbände, deren Bildung einerseits von der Torulaart, andererseits von äußeren Einflüssen von Seite des Nährsubstrates bedingt wird. Nicht unerwähnt sollen die nicht allzu selten auftretenden abnormen Zellbildungen bleiben, bei denen die Mutterzelle förmlich einen Riß bekommt, durch den dann ein breiter Fortsatz auswächst, von dem die Tochterzelle durch eine Querwand abgeschnürt wird, so daß Erscheinungen zutage treten, die an eine Sporenkeimung erinnern. Die Ausstülpung würde demnach dem Keimschlauch oder Keimstäbchen entsprechen, von dem die erste Tochterzelle abgeschnürt wird.

Die länglichen Zellen der Vertreter der zweiten Untergruppe der Torulaceen neigen besonders zur Ausbildung ausgedehnterer Sproßverbände mit mehr wurstförmigen Zellen, die an die Zellformen der Hautbildungen bei Saccharomyceten erinnern. Mitunter entstehen auch lange Zellreihen mit wenigen seitlichen Verzweigungen, die einem Myzel nicht unähnlich sind.

Die Torulaarten der ersten Gruppe erzeugen auf Gelatine Riesenkolonien von flacher, weniger erhabenen Beschaffenheit ohne tiefere oder zahlreichere Einbuchtungen. Die Oberfläche derselben erscheint etwas radiär gestreift und weist kleinere flache oder höckerartige, verstreut liegende Erhabenheiten auf.

Die Riesenkolonien der Vertreter der zweiten Untergruppe sind viel formenreicher und zierlicher gebaut. Ihre Oberfläche ist weiß, sehr schön gefältelt oder trägt hübsche Schleifen und Wülste.

Wenn im allgemeinen die Torulaarten auch höhere Verbindungen, besonders Peptone als Stickstoffquelle bevorzugen, so vermögen sie doch auch mit einfacheren Stickstoffverbindungen, wie Asparagin, noch sehr gut ihren Stickstoffbedarf zu decken. Als Kohlenstoffquelle dient ihnen eine Reihe von organischen Säuren, wie Zitronensäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure usw. und in erster Linie Kohlehydrate. Einige von den letzteren werden auch zu Alkohol und Kohlensäure vergoren, einige nur zur Kohlenstoffgewinnung verarbeitet. Sie gedeihen am besten bei leicht saurer Reaktion des Nährsubstrates und unter ausreichendem Zutritt des Sauerstoffes der Luft. Damit erklärt sich wohl auch die bei ihnen durchwegs ausgeprägte Hautbildung auf der Oberfläche der Nährlösungen. Ihr Sauerstoffbedürfnis scheint aber kleiner zu sein als dasjenige der Mykodermen, da sie sich unter ziemlich hohen Flüssigkeitsschichten noch relativ gut zu entwickeln vermögen. Im allgemeinen erzeugen die Torulaceen geringere Mengen von Alkohol als die Saccharomyceten. Wohl die meisten von ihnen vergären Glukose, Mannose, Galaktose und Fruktose, während nur wenige Maltose gering angreifen oder überhaupt nicht zu vergären vermögen. Saccharose wird von der Mehrheit der Torulaarten nach vorangegangener Inversion vergoren. Laktose dient speziell den sogenannten Milchhefen als Gärmaterial, wird aber von den anderen Torulaarten nicht vergoren, was auch für Trehalose, Melibiose und Melizitose gilt. Bei der von den Torulaceen durchgeführten alkoholischen Gärung stellen sich meist ausgiebige Esterbildungen ein, die dem Gärprodukt einen eigenartigen Geschmack

und Geruch verleihen, der in vielen Fällen dem Apfelaroma nahe kommt. Durch Buttersäurebildung und das Auftreten anderer flüchtiger Säuren wird das Gärprodukt oft sehr unangenehm beeinflußt.

Diese Gärbefunde lassen auf die Anwesenheit einer Reihe von Enzymen kohlehydratspaltender Natur schließen. Überdies besitzen alle Torulaceen auch ein gelatinelösendes Enzym, das in den Nährboden abgegeben wird.

In bezug auf die Temperaturen, innerhalb welcher Vermehrung und Gärwirkung der Torulazellen auftritt, herrschen bei diesen Sproßpilzen große Verschiedenheiten. Viele bevorzugen mehr niedere Temperaturen, andere wieder höhere. Das Temperaturoptimum liegt in den meisten Fällen zwischen 20 und 30° C, während das Temperaturmaximum innerhalb von 36 und 50° C liegt. Bei höheren Temperaturen sterben die Zellen nach kürzerer oder längerer Zeit ab. Die Resistenz gegen hohe Temperaturen ist abhängig von dem Nährsubstrat und seinem Gehalt an schädigenden Stoffen, wie Alkohol, Kohlensäure usw. Übrigens sind die Torulazellen gegen Alkohol ziemlich empfindlich, nachdem wohl in den meisten Fällen bei einem Gehalt von 9% das Wachstum gänzlich unterdrückt ist, obwohl die Zellen dabei nicht getötet werden.

Für die Gärungsbetriebe gewinnen die Torulaceen in erster Linie als Krankheitserreger für die Gärprodukte eine Bedeutung, obwohl sie eigentlich zu den selteneren Befunden zählen. Anders ist ihr Verhältnis in englischen Brauereien, wo gerade sie den für die englischen Biere charakteristischen Geruch und Geschmack bei der Nachgärung derselben erzeugen. Man bezeichnet diese Gruppe von Torulaceen als Brettanomyces. Auch im Kefir, Mazun, Kumys usw., also alkoholhaltigen Milchprodukten, sind Torulaarten als tätig befunden worden.

2. Reinhaltung der Betriebshefe.

In dem verschiedenen Verhalten von Kulturhefen und wilden Essig- und Milchsäurebakterien gegenüber den verschiedenen Säuren haben wir ein Mittel in der Hand, durch zweierlei Maßnahmen verunreinigte oder infizierte Hefe wieder zu reinigen. Wir können entweder solche Hefe mit einer entsprechend konzentrierten Säurelösung waschen oder dieselbe bei einem eben noch zulässigem Säuregehalt gären lassen. Nach Henneberg eignen sich zur Hefewaschung ganz hervorragend Schwefelsäure, Salzsäure, dann gut Salpetersäure und Phosphorsäure und endlich, weniger gut, aber immer noch ausreichend, Milchsäure, Oxalsäure, Weinsäure und Zitronensäure. Die weiteste Verbreitung in der Praxis wird infolge ihrer günstigen Wirkung und auch ihres niederen Preises wegen die Schwefelsäure finden. Die geeigneten Mittel zur Durchführung einer Reinigungsgärung sind wieder Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Milchsäure, Weinsäure, Zitronensäure und in niederem Grade auch Phosphorsäure. Wenn eine vollständig bakterienfreie Gärung nicht erzielt zu werden braucht, wie es in der Praxis meist genügt, kommen noch als zweckmäßig in Frage Flußsäure und Ameisensäure. Sie unterdrücken in der noch zulässigen Konzentration jede Bakterienvermehrung, ohne aber die Spaltpilze zu vernichten.

Gegen die sonst als Desinfektionsmittel allgemein zur Verwendung gelangenden chemischen Verbindungen, wie Formaldehyd, Phenole usw. ist die Hefe ebenfalls sehr wenig widerstandsfähig, jedenfalls aber doch resistenter als die für die Gärführung in Frage kommenden Bakterien. Letztere werden schon durch weitaus geringere Mengen von Formaldehyd usw. schwer geschädigt und zum großen Teile getötet. Aus diesem Grunde eignet sich der Formaldehyd auch ganz vorzüglich zur Hefewaschung bei Verunreinigung derselben durch Bakterien.

Zur sicheren Ausschaltung von Kahmhefen, die mitunter sehr störend in den Gang der Gärung eingreifen, konnte bisher leider kein Mittel gefunden werden, da gerade diese Hefen meist sehr widerstandsfähig und genügsam in ihren Ansprüchen an das Nährsubstrat sind.

3. Hefereinzucht im Großen.

Besonders in den Brauereien arbeitet man heute fast ausschließlich mit Reinkulturen von Kulturhefen. Auch in der Weinbereitung und in den übrigen Gärungsbetrieben spielt die Anwendung von Reinkulturen schon eine bedeutende Rolle, da dadurch sowohl eine gewisse Sicherheit des Verlaufes der Gärung gewährleistet ist und andererseits auch jederzeit ein einwandfreies Gärprodukt erhalten wird. Überdies ermöglicht die Gärführung durch Reinkulturen eine große und zielbewußte Einflußnahme auf den ganzen Gärverlauf und auf die Art und Weise des Gärproduktes.

Immer geht man dabei von einer einzigen Zelle jener Hefeart aus, von der man vermutet, daß gerade sie bei der betreffenden Gärung hauptsächlich beteiligt ist und für das gewünschte Endprodukt aufkommt. Nach Hansen geht man beispielsweise in der Bierbrauerei bei der Einführung einer Reinhefe von derjenigen Hefe aus, die sich im Betrieb am besten bewährt hat. Da das Oberflächenbier zu Beginn der Hauptgärung nur wenig oder überhaupt keine wilden Hefen enthält, so isoliert man von dort einige einzelne Zellen als Ausgangsmaterial. Würde man zur Isolierung das Ende der Hauptgärung wählen, so bekäme man viel eher wilde Hefen. Deshalb impft man ab, sobald die Schaumdecke im Gärbottich sich gebildet hat. Von den Einzelkulturen legt man dann Massenkulturen an, mit denen Laboratoriumsbrauversuche gemacht werden, bei denen aber selbstverständlich die gleichen anderen Bedingungen herrschen müssen und auch die gleiche Bierwürze zu verwenden ist. Erst nachdem man den Charakter der Hefe in jeder Hinsicht ermittelt hat, schreitet man zur Einführung im großen. Mitunter zeigen die verschiedenen Kulturen, die aus einzelnen aber gleichgearteten Zellen hervorgingen, doch recht bedeutende Abweichungen in bezug auf das Gärvermögen. Man wählt dann aber von allen angelegten Massenkulturen diejenige mit den besten Eigenschaften aus und bereitet mit ihr die Stellhefe nach einigen Vorkulturen, die zuerst in Pasteurkolben und dann in Carlsberg-Gefäßen ausgeführt werden. Unsere Figur 94 zeigt einen Pasteurkolben. Man benutzt für Reinzuchtzwecke im großen solche von 1 l Inhalt. Die Füllung und Abimpfung geschieht durch die seitliche Öffnung, welche mit einem Kautschukschlauch versehen ist, der durch ein Glasstäbchen geschlossen ist. Der zu einem

Schwanenhalsrohr ausgezogene Fortsatz trägt im absteigenden Schenkel noch eine Ausweitung, die Hansen an dem ursprünglichen Pasteurkolben anbrachte, durch die Infektionen leichter vermieden werden. Das freie Ende des Schwanenhalsrohres ist mit einem Wattebäuschchen oder Asbestpfropfen verschlossen.

In Figur 95 links sehen wir das von Hansen konstruierte Carlsberg-Gefäß (*c*), während rechts dasselbe mit der von Prior angebrachten Lüftungseinrichtung versehen abgebildet ist. Das Carlsberg-Gefäß ist aus verzinntem Kupfer gefertigt und stellt im wesentlichen einen vergrößerten Hansen-Pasteur-Kolben vor. Sein Volumen beträgt ca. 10 l. Demnach kann er mit 7—8 l Würze beschickt werden. Oben ist das doppelt gebogene Metallrohr *s* durch Schraubenverschluß angesetzt. Sein freies Ende trägt ein Bakterienfilter, eine mit Asbest gefüllte und nur mit einem lose aufsitzenden Deckel verschlossene Büchse (*f*). Unten am Boden befindet sich ein mit einem Kautschukschlauch und Glasstab verschlossener Rohransatz (*h*) zur Abnahme der Satzhefe, oben seitlich ein ebenso verschlossener Rohransatz (*c*) für Impf- und

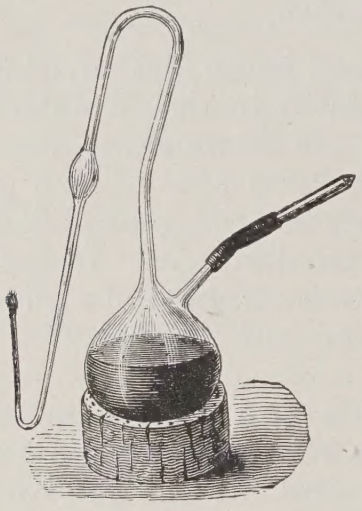


Fig. 94.

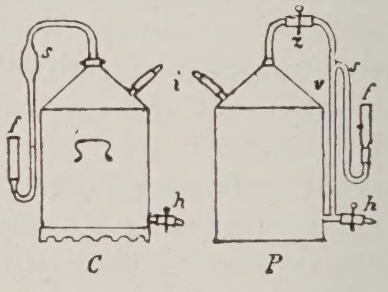


Fig. 95.

Füllzwecke. Beim rechts abgebildeten Gefäß ist die Priorsche Durchlüftungseinrichtung angebracht, welche ein Durchlüften der gärenden Würze gestattet, solange innen ein negativer Druck herrscht und der Quetschhahn bei *z* geschlossen ist. Die einströmende Luft wird durch das Filter *f* keimfrei gemacht.

Erst die aus dem Carlsberg-Gefäß kommenden Massenkulturen dienen dann zur Impfung der Anstellhefe. Immer muß man darauf sehen, daß von der gewonnenen Reinkultur einige Laboratoriumskulturen in Reserve bleiben, die von Zeit zu Zeit überimpft werden müssen.

Um nun ständig reine Stellhefe in der Brauerei zur Verfügung zu haben, hat man besondere **Reinzuchtapparate** verfertigt, von denen heute schon eine größere Anzahl existiert und sich gut bewährt, obwohl man den Hansenschen Bemühungen der Einführung der Reinkulturen mit großem Mißtrauen in der Praxis begegnete und verschiedene Einwände erhob.

Wohl den ältesten und doch heute noch praktisch viel gebrauchten **Hefereinzuchtapparat** konstruierte Emil Christian Hansen in Verbindung mit dem Braudirektor Kühle in Alt-Carlsberg bei Kopenhagen im Jahre 1885. Dieser Hansen-Kühlesche Reinzuchtapparat ist im wesentlichen aus einem Würzezylinder und einem etwas kleineren

Gärzylinder aufgebaut. Die ganze Zusammenstellung wird wie bei allen übrigen Reinzuchtapparaten von den Prinzipien beherrscht, daß die zur Einführung gelangende Hefe eine Reinkultur im strengsten Sinne des Wortes ist, in dem Apparat wirklich steril und kontinuierlich gearbeitet und den Apparaten nach gewissen Zeiten immer genügende Quantitäten Stellhefe entnommen werden kann. Wie schon angedeutet, bürgerten sich die Reinzuchtapparate zuerst in den untergärigen Brauereien ein, später zum Teil auch in den obergärigen und jetzt auch in fast allen anderen Gärbetrieben, wenn auch mit entsprechenden Abänderungen.

In der folgenden Figur 96 sehen wir einen Schnitt durch den Hansen-Kühleschen Hefereinzuchtapparat. Der Würzezylinder *S* ist entweder durch eine Dampfschlange, wie in der Zeichnung, oder durch einen Dampfmantel heizbar. Diese Einrichtung kann dort fehlen, wo siedendheiße, sterilisierte Würze vom Sudhause unmittelbar eingelassen wird. Dieser Würzezylinder oder Sterilisator (*S*) ist aus innen verzinntem Kupfer in einer Größe von ungefähr 300 l in Zylinderform mit aufschraubbarem Deckel gefertigt. Seine Höhe mißt etwa 120 cm, der Durchmesser halb soviel. Zum Einlassen der Würze dient der Hahn *a*. Zur Beobachtung und Kontrolle der normalen Füllung dient der Probierhahn *b*. Der Ablaßhahn für die Würze (*c*) in den Gärzylinder mündet etwas über dem Boden, um den Geläger zurückzuhalten. Durch den unmittelbar im Boden angebrachten Hahn *c'* kann der Würzezylinder gänzlich entleert und auch gereinigt werden. In dem Sterilisator findet auch die Lüftung der Würze während der Abkühlung statt. Dazu dient Preßluft aus der Leitung *L*, die das Wattefilter *f* passiert, bevor sie in das Innere des Sterilisators durch ein Rohr eintritt, das am Ende geschlossen ist und etwa bis zur Mitte des Gefäßes reicht. Es besitzt zahlreiche feinste Seitenlöcher, durch die die Luft in die Würze übertritt. Ein zwischen Filter und Auslaufrohr gelegter Hahn gestattet eine Regulierung oder Abstellung des Luftstromes. Die überschüssige Luft strömt durch das ebenfalls mit einem Durchlaß versehene Rohr *Rs* ab, dessen aufwärts gekrümmtes Ende in einem Gefäß unter Wasser mündet, um den Luftdurchtritt beobachten zu können. Um nun auch Druckluft auf die Würze wirken lassen zu können, ohne daß sie dieselbe passiert, teilt man den Luftzufluß oft gabelig hinter dem Luftfilter, wobei jeder Ast seinen Hahn tragen muß.

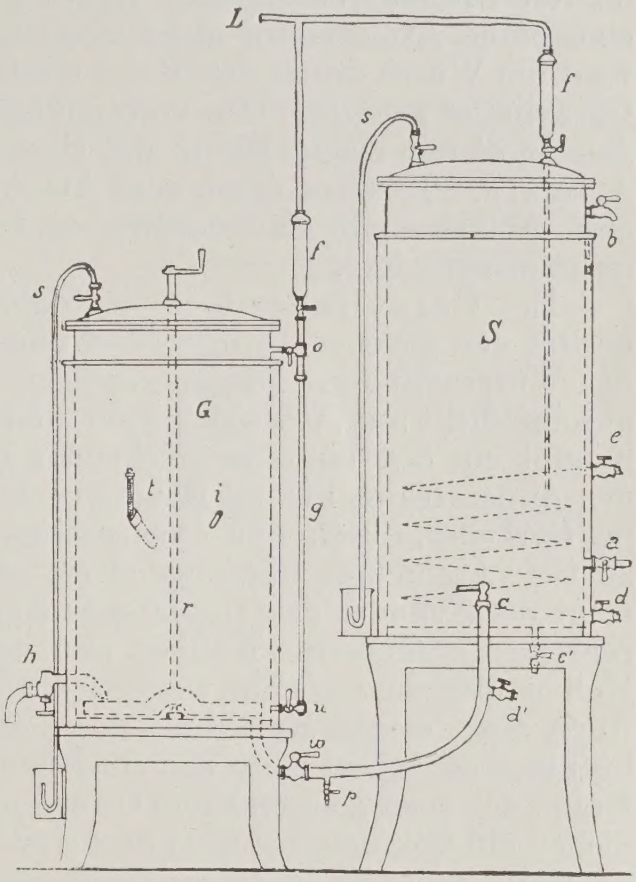


Fig. 96.

Die Kühleinrichtung besteht im einfachsten Falle aus einem um den Zylindermantel oben herumgelegten Rohrring, in dem das kalte Wasser zugeführt wird und aus feinen Löchern auf die Mantelaußenfläche spritzt. Wenn zur Sterilisierung eine Dampfschlange oder ein Dampfheizmantel angebracht ist, dann kann diese Vorrichtung auch zum Kühlen verwendet werden, aber unter Zuhilfenahme des früher genannten Kühlers, da sonst die Kühlung zu langsam erfolgt. In der Zeichnung sehen wir noch die Dampfschlange mit dem Dampfeintritt beim Durchlaß *d* und den Dampfaustritt beim Hahn *e*. Die Armatur wird meist noch durch ein Manometer vervollständigt; dasselbe ist dann unbedingt notwendig, wenn der Sterilisator oder Würzezylinder nicht höher gestellt werden kann als der Gärzylinder. Dann muß man eben die Würze durch Luftdruck in den letzteren hinüberbefördern. Dabei benutzt man aber nur Drucke, die eine halbe Atmosphäre nicht übersteigen. Wie schon oben mitgeteilt, wird die Würze durch den Hahn *c* mit einem Schlauche durch *w* in den Gärzylinder geleitet. Der Verbindungsschlauch hat noch einen seitlichen Ansatz *d'* mit einem Hahn und einen nach abwärts gerichteten kleinen Ansatz *p*. Ersterer dient zum Anschluß an die Dampfleitung, letztere zum Ablassen von Kondenswasser beim Ausdämpfen des Sterilisators und Gärzylinders.

Der Gärzylinder *G* ist ebenfalls aus verzinntem Kupfer gefertigt, besitzt den gleichen Durchmesser und nur eine etwas geringere Höhe als der Würzezylinder. Der aufgeschraubte Deckel und alle Hähne müssen absolut dicht sein, um sicher jede Infektion auszuschließen. Den Zylinder umgibt ein fast bis oben reichender Kühlmantel, der bei Aufstellung des Apparates in kühlen Räumen fehlen kann und in kalten Orten, wie im Gärkeller, durch eine wärmeisolierende Schicht ersetzt wird, um eine zu tiefe Abkühlung hintanzuhalten. Seitlich, etwa in der halben Höhe, trägt der Zylinder den Impfansatz *i* und ein Thermometer *t*. Das Impfröhrchen stimmt im Kaliber mit den Ansätzen der Pasteur-Hansen-Kolben überein, um ohne weiteres die Verbindungen herstellen zu können. Auch dient es zur Entnahme der Kontrollproben. Am besten zur Verhütung von Infektionen eignet sich der von Kickelhayn konstruierte Hahn, der nach jedesmaligem Öffnen mit Alkohol desinfiziert wird. Sonst dienen ein Aluminiumstöpsel und ein Quetschhahn als Verschlüsse. Auch der Gärzylinder ist an die Luftleitung angeschlossen. Die durch das Filter *f* eintretende Luft kann entweder durch den Hahn *o* die Oberfläche des Inhaltes bestreichen oder durch das Glasrohr *g* und den Hahn *u* unten in den Gärzylinder eintreten und das Gärgut durchströmen. Das Rohr *g* dient bei entsprechenden Hahnstellungen auch als Anzeiger für den Stand des Inhaltes und ist mit den entsprechenden Marken versehen, die die Menge der entnommenen Flüssigkeit angeben. Der Deckel trägt noch ein S-förmig gebogenes, mit einem Hahn versehenes Auspuffrohr *s*, wie der Würzezylinder. Die Würze wird durch den Hahn *w* am Grunde des Zylinders eingelassen. Die Hefe bzw. das Bier entnimmt man durch den Hahn *h*, der nach innen unten eine nahe an den Boden reichende, bogenförmige Verlängerung trägt. Außen befindet sich ein gleiches, nur tiefer herunterragendes Verlängerungsstück, das mit einer Metallkapsel verschlossen ist. So wirkt der Hahn gleichsam als Heber, wodurch ein Eintreten von Luft so lange vermieden ist, als das innere Verlängerungsstück unter dem Flüssigkeitsspiegel sich befindet. Ein nach unten sich öffnendes

Kegelventil des Hahnes sichert ein ungehindertes Ausfließen in vollem Strahle auch beim Eindringen von größeren Partikeln des Gärgutes. Das Handrad dieses Hahnes muß bei richtiger Montage immer nach unten sehen, so daß der Verschluß durch Hinaufdrehen desselben erfolgt. Im Gärzylinder befindet sich noch ein Rührwerk *r*, dessen Schaufeln möglichst nahe am Boden sich bewegen, um die sich fest ablagernde Hefe gleichmäßig zu verteilen. Die außen oben am Deckel befindliche Antriebskurbel desselben geht durch eine dicht schließende Stopfbüchse hindurch.

Schon aus der Beschreibung der Konstruktion ist das Arbeiten mit diesem Reinzuchtapparat vollauf erklärt und gleichzeitig ersichtlich, daß tatsächlich damit absolut steril gearbeitet werden kann. Man hat es in der Hand, mit Leichtigkeit alle Apparatteile durch Dampf zu sterilisieren. Man braucht nur bei *d'* die Dampfleitung anzuschließen und die Hähne entsprechend zu öffnen und zu schließen.

Im Jahre 1888 konstruierte P. Lindner einen Reinzuchtapparat, der sich von demjenigen Hansens und Kühles wesentlich unterscheidet. Hier dient das Gärgefäß zugleich als Sterilisator für die Würze, zur Lüftung und Kühlung derselben, während die Hefe für das Anstellen der nächsten Gärung im Gärzylinder in einem kleinen, gesonderten Gefäß gezüchtet wird. Unsere Figur 97 zeigt den Schnitt durch den **kleinen Reinzuchtapparat Lindners**. Er ist in erster Linie für kleine Brauereien und Laboratorien bestimmt und vermag ungefähr 1 kg Reinhefe bei einer Füllung von 50 bis 60 l zu liefern. Er besteht aus dem kombinierten Gär- und Würzezylinder *SG* und dem getrennten, mit einem Kautschukschlauch zu verbindenden Anstellgefäß *A*. Der aus Kupfer hergestellte Anstellkolben *A* faßt etwa 5—6 l. Die entsprechende Füllmenge wird jedesmal eingewogen. Seitlich und oben trägt der Anstellkolben Ansätze, von denen *i* zur Impfung und Verbindung mit dem Gärzylinder dient, während der andere Ansatz in das Filter *f'* mündet. Das Gärgefäß *SG* ist ein liegender Zylinder, der bei *a* einen unten befindlichen seitlichen Ansatz zur Einführung des Lüftungsrohres trägt und oben bei *b* einen solchen zur Verbindung mit dem Anstellkolben. Das Lüftungsrohr *v* ist durchlocht und in den Zylinder durch Kautschuk eingedichtet. An dasselbe schließt sich mit einem längeren Kautschukschlauch mit dem Quetschhahn *L* das Wattefilter *f* an, das höher als der Zylinder stehen muß, wie es die Figur zeigt. Die Lüftung erfolgt in der Weise, daß mit *f'* eine Wasserstrahlpumpe verbunden wird, die durch das Wattefilter *f* entkeimte Luft durch die Würze saugt. Der Gärzylinder hat einen Rauminhalt von ungefähr 80 l. Wie wir gesehen haben, fehlen hier Hähne vollends. Daher sind die Infektionsmöglichkeiten auf ein Minimum herabgedrückt. Eine Gefahr bilden nur die vielen Gummischlauchverbindungen, die häufig undicht werden und dann Infektionen vermitteln.

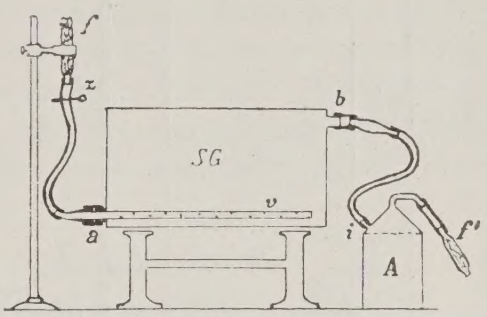


Fig. 97.

Später im Jahre 1891 ließ Lindner einen **großen Reinzuchtapparat** nach diesem System erbauen, der im folgenden kurz beschrieben sein soll. In Figur 98 sehen wir denselben abgebildet. Auch dabei findet das früher

beschriebene, dem Carlsberg-Gefäß ähnliche Anstellgefäß Verwendung, das wieder *A* dieser Figur entspricht. Es ist hier auf einer Federwage *F* hängend abgebildet, damit man die ausfließende und zur Verimpfung gelangende Hefemenge gleich ablesen kann. Es hat aber Hähne und überdies einen unten befindlichen, seitlichen Ansatz *h'*. Der Impfansatz *i* und der letztgenannte Abfüllansatz *h'* ist mit Dreiweghähnen ausgestattet. Der Sterilisier- und Gärzylinder *SG* hat einen gewölbten Deckel und spitz konischen Boden. Die äußere Zylindermantelfläche wird zwecks Kühlung von einem oben befindlichen Spitzkranz *R* mit kaltem Wasser besprengt. Die Heizung bei der Sterilisation der Würze besorgt eine Dampfschlange mit dem Dampfeinlaßventil *d* und Ausströmventil *e*, die nachher auch zur Kühlung dient. Zum Sterilisieren des Innern und der Rohrleitungen sind auch die Dampfventile d^1 und d^2 angebracht. Mit der Luftleitung *L* ist durch ein Filter *f* noch unter Zwischenschaltung von Hähnen der Flüssigkeitsstandanzeiger *g*, zugleich Luftzuführungsrohr, angeschlossen. Durch *o* kann die Luft oben, durch *u* unten eintreten. Mit dem Anstellgefäß kann eine Verbindung des Luftrohres durch u^1 erreicht werden. u^2 führt die Luft durch eine kurze Leitung mit den Hähnen *v*, v^1 und v^2 durch den konischen Boden von unten ins Innere des Gärzylinders. Beim Einströmen der Luft durch diese drei Rohre wird die entstehende Satzhefe kräftig aufgewirbelt und verteilt. Der Abfluß der Hefe geschieht durch den Abschlußhahn *w* des Zylinders und den Hahn *h*, während das Bier bei *x* abgelassen wird. Die überschüssigen Gärungsgase sowohl als auch die Luft treten durch das Rohr *s* aus, das am Deckel angesetzt ist und dort einen Hahn trägt. Es mündet mit der aufwärts gebogenen Öffnung unter Wasser aus. Die Würzezuleitung geschieht durch die Rohrleitung *Wz* mit dem Hahn *a*, die Dampfzuleitung durch das Rohr *D* mit dem Ventil d^2. Zur Reinigung dient die Wasserzuleitung *W* mit dem Hahn *m* am Deckel, die im Innern in eine Brause mündet, womit die innere Oberfläche gespült wird. Das abrinnende Kühlwasser vom Kühlkranz *k* fließt durch den an der unten befindlichen Rinne angebrachten Hahn *l* ab. Nach dem Lindnerschen System wurde noch eine Reihe von Reinzuchtapparaten konstruiert, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll. Außerdem existieren noch zahlreiche Reinzucht-

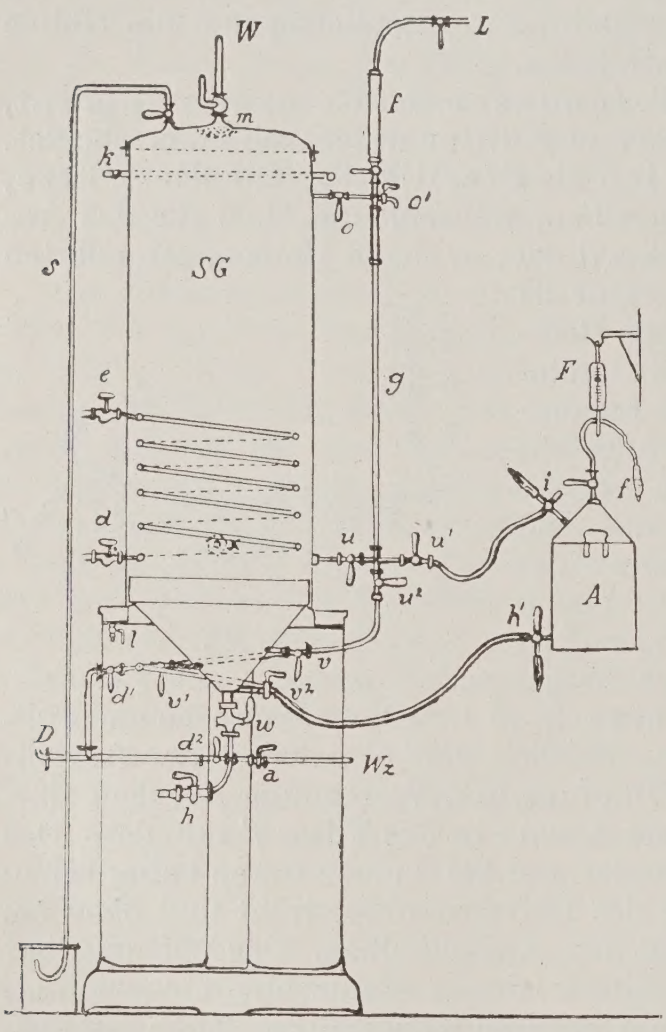


Fig. 98.

apparate, die in der Praxis Verwendung finden und Gutes leisten. Sie dienen alle dem gleichen Zwecke der Massenreinkultur, wenn sie in der Ausführung auch Verschiedenheiten aufweisen.

Auch in der Brennerei und Preßhefefabrikation hat sich bereits die Reinhefe eingebürgert. Entweder züchten sich die großen Betriebe ihre Hefe selbst rein oder beziehen sie in gepreßtem Zustande von bewährten Laboratorien. Hier werden natürlich an die betreffenden Hefen ganz andere Anforderungen gestellt als in der Brauerei, wo dieselben in eine Würze kommen, die für steril angesehen werden kann, was bei den Maischen aber durchaus nicht der Fall ist. Abgesehen davon ist die Gärtemperatur in der Brennerei und auch in der Preßhefefabrik eine höhere, wodurch schwer schädigende Bakterienvegetation sich in kurzer Zeit, abgesehen von Kahmhefen, entwickeln können. Ohne Reinzucht ist man immer auf die gerade in der Mehrheit vorhandene Hefe angewiesen, die zwar oft zu guten Ergebnissen führt, aber keineswegs immer. Die jeweilige Hefe steht auch in Abhängigkeit von dem Maischmaterial. Ein gleichmäßiger Betrieb ist sonach in diesen Fällen wohl ausgeschlossen. Deshalb arbeitet man jetzt fast ausschließlich in den größeren Betrieben mit Reinhefen, die gerade die hier geforderten Eigenschaften in hohem Maße besitzen. Man hat für diese Betriebe auch besondere Reinzuchtapparate hergestellt, von denen der Apparat von Jacquemin, Fernbach, Bendixen und Barbet hier erwähnt seien. Dieselbe gestatten einen kontinuierlichen und infektionsfreien Betrieb bei großer Ausbeute an Anstellhefe, da hier immer mehrere Hefe-Propagierungsgefäße verschiedener Größe nacheinander in Tätigkeit kommen. Dieselben finden auch in der Melassenbrennerei Anwendung.

F. System der Hefen und der saccharomycesähnlichen Pilze.

Die Stellung der Sproßpilze im System hat mancherlei Verschiebungen erfahren. Nachdem man aber die Art und Weise der Vermehrung der Sproßpilze durch Sprossung und Sporenbildung unter Verwandlung der Sproßzelle in einen Askus genau kennen gelernt und auch in der Verschmelzung der Sporen vor der Keimung mit gutem Recht einen sexuellen Akt erkannt hatte, tut man heute am besten, die Sproßpilze in die nächste Nähe der Askomyceten oder Schlauchpilze zu stellen, wenn man schon nicht so weit gehen kann, sie ihnen einzureihen. Wir finden bei den Hefen nur wenige morphologische Charaktere, die systematischen Wert besitzen, höchstens der Größe und Form der Sporen kann solcher zuerkannt werden. Dafür müssen wir aber zu einer großen Reihe physiologischer Merkmale unsere Zuflucht nehmen. Von Bedeutung sind hier die Temperaturkardinalpunkte für die Sprossung und Sporenbildung und auch Hautbildung, die Gärkraft, und mit einiger Vorsicht auch das Vermögen, gewisse Zucker zu spalten und andere nicht. Dabei müssen wir uns aber immer gegenwärtig halten, daß eine Hefespezies sehr zahlreiche Rassen im Laufe der langen Zeit ausgebildet hat, was besonders für die Bier- und Weinhefen gilt. Besonders zahlreich sind die Rassen der Kulturhefen, die infolge Auslese von Hefezellen für bestimmte Gärungszwecke der Brauerei, Weinbereitung, Brennerei und Preßhefeherstellung im Laufe der Zeit entstanden sind.

Mit Kohl können wir die Hefepilze in drei große Abteilungen bringen, von denen die erste die Sproßhefen oder Saccharomyceten, die zweite die Spalthefen oder Schizosaccharomyceten und endlich die dritte die hefeähnlichen Pilze umfaßt.

I. Saccharomycetes.

Es sind einzellige Sproßpilze mit Vermehrung durch Sprossung und Bildung von Endosporen. Die Sporen können in jeder Sproßzelle, die in diesem Falle zum Askus oder zur Sporenmutterzelle wird, in der Anzahl von 1—4, in seltenen Fällen auch 12 hervorgebracht werden. Die Sporen sind ebenfalls einzellig. Saccharomycetes umfaßt zwei Gruppen mit zahlreichen Gattungen und Untergruppen.

I. Gruppe.

Die hierher gehörigen Saccharomyceten bilden in zuckerhaltigen Nährlösungen sogleich Bodensatzhefe, während eine Kahmhautbildung, wenn überhaupt, erst spät auftritt. Die Kahmhaut selbst besitzt eine mehr schleimige Beschaffenheit und lagert keine Luft ein. Eine Ausnahme bildet nur diejenige von Saccharomycopsis capsularis, die schnell ausgebildet wird. Die runden oder ovalen Sporen besitzen eine glatte, einfache oder doppelte Haut und keimen entweder unter Bildung eines Promyzels oder durch unmittelbare Sprossung. Bei den meisten Vertretern dieser Gruppe beobachtet man Schleimhautbildung.

1. Gattung: Saccharomyces Rees.

Die Vertreter derselben besitzen Sporen mit einfacher Membran, die durch Sprossung keimen. In den Hautbildungen kommen bei einzelnen Arten auch Myzele mit deutlichen Querwänden zur Ausbildung.

Ihrem Verhalten gegenüber Dextrose, Saccharose, Maltose und Laktose ordnet man sie zweckmäßig in sechs Untergruppen ein.

Untergruppe A.

Vergärt werden Dextrose, Saccharose und Maltose.

Unter den Vertretern dieser Untergruppe finden sich zahlreiche Kulturhefen, die für die Gärungsbetriebe von größter Bedeutung sind. Einige von ihnen seien hier näher beschrieben.

Saccharomyces cerevisiae Hansen.

In Brauwürze ruft diese Art Obergärung hervor. Der Bodensatz besteht aus Sproßverbänden, die aus kugeligen, ovalen oder eiförmigen Zellen zusammengesetzt sind, während sich in der Kahmhaut neben den geschilderten Sproßverbänden auch solche myzelartiger Natur finden.

Für die Sporulation liegt das Temperaturoptimum bei 20°, das Minimum bei 10° und das Maximum bei 37° C. Die Anzahl der Sporen in einem Askus beträgt 1—4, selten auch 5.

Zu Saccharomyces cerevisiae gehört eine große Anzahl von Industriehefen, wie die Carlsberg-Unterhefe 1 und 2, zahlreiche von Will isolierte Arten, die dem Typus Hefe Saaz (Ober-) und Froh-

berg (Unterhefe) angehörigen Formen, dann die Logoshefe und die Brennereihefen Rasse II und XII des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin.

Saccharomyces Pastorianus Hansen.

Saccharomyces Pastorianus ist eine in Gärkellern oft anzutreffende wilde Hefe von großer Gärkraft, aber mit der sie unbrauchbar machenden Eigenschaft, dem Bier einen sehr unangenehmen, bitteren Geschmack zu verleihen und die Klärung zu erschweren. Für die Weinbereitung soll sie brauchbar sein. Diese untergärige Hefe zeigt in den Bodensätzen vorherrschend mehr wurstförmige Zellen neben ovalen und birnenförmigen Knospen. Die Sporenmutterzellen sind langgestreckt und beherbergen weist 1—4 Sporen, seltener 5—10 von sehr schwankender Größe. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 27,5° C, das Minimum um 2° und das Maximum bei 34° C.

Saccharomyces intermedius Hansen.

Diese Hefe stammt aus der Luft einer Brauerei in Kopenhagen, aus der sie von Hansen reingezüchtet wurde. In der Satzhefe bestehen die Sproßverbände meist aus gestreckten Zellen neben wenigen rundlichen, während in der Kahmhaut die runden Formen überwiegen. In der oft etwas gestreckten Sporenmutterzelle gelangen 1—7 Sporen zur Ausbildung. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung befindet sich zwischen 26 und 28° C, das Maximum bei 34° C und endlich das Minimum zwischen 2 und 3° C.

Saccharomyces validus Hansen.

Diese Art züchtete Hansen aus durch Hefe getrübtem Bier. Sie selbst verursacht diese Trübung, weshalb sie zu den Krankheitshefen zu zählen ist. Diese Oberhefe zeigt in ihren Bodensätzen gestreckte und kugelige Zellen, während in ihrer Kahmhaut die ersteren vorherrschen. In dem rundlich ovalen bis langgestreckten Askus finden sich 2—9 Sporen von 2—5 μ Größe. Die Kardinalpunkte in bezug auf die Temperatur bei der Sporenbildung sind für das Optimum 25° C, für das Maximum 29° und für das Minimum 4° C. Sie gärt kräftig.

Saccharomyces ellipsoideus Hansen.

Diese von der Haut reifer Weinbeeren durch Hansen reingezüchtete, wilde, untergärige Hefe spielt bei der Weinbereitung eine wichtige Rolle und zu ihr gehören die zahlreichen Kulturweinhefen und Obstweinhefen, die unter dem Namen Johannisberg II usw. gehen. Der in Bierwürze entstehende Bodensatz besteht zumeist aus kugeligen bis elliptischen Zellen. Die kleinen und ellipsoidischen Sporenmutterzellen enthalten 1—4 Sporen. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 25° C, während sich das Minimum bei 5—7°, das Maximum bei 31° C befindet.

Saccharomyces turbidans Hansen.

Dieser wilde, untergärige Saccharomycet bringt im Bier Trübungen hervor, ist also eine Krankheitshefe. Im Bodensatz derselben findet man nur wenige gestreckte Zellen. Die Mehrzahl ist elliptisch bis

eiförmig. Die Kardinalpunkte für die Sporenbildung sind: Optimum 29° C, Minimum 4—5° C und Maximum 34—35° C.

Saccharomyces Vordermannii Went und Pr. Geerligs.

Die sehr kräftig, bis zu 10% Alkohol bildende Hefe findet bei der Arrakherstellung in Java Verwendung und wurde aus dem Ragi gezüchtet. Der Ragi besteht aus allerlei Pflanzenteilen, Zuckerrohr und Reis und besitzt Kugel- oder Kuchenform. Neben dem genannten Saccharomyces enthält er noch eine reiche Vegetation von Bakterien und Schimmelpilzen, welch letztere die vorhandene Stärke verzuckern. Die vorhandenen und gebildeten Zucker vergärt die genannte Hefe und gibt dabei ein sehr gutes Arrakprodukt. Der Saccharomyces Vordermannii besitzt sehr vielgestaltete Zellformen und erzeugt in seinem Askus vier Sporen. Kahmhäute bildet er überhaupt nicht.

Saccharomyces Saké Yake.

Diese Hefe besorgt die Vergärung des durch die Tätigkeit des Aspergillus oryzae im Saké, dem japanischen Nationalgetränk, aus der Reisstärke entstandenen Zuckers. Die Herstellung des Sakés, des Reisbieres der Japaner, das in sehr großen Mengen verbraucht wird, ist ziemlich langwierig. Zuerst, meist im November, wird der Koji bereitet, indem man gedämpften Reis mit der gelbgrünen Konidien des Aspergillus oryzae beimpft und die Sporen desselben bei 20—25° C keimen läßt. Dann nach einigen Tagen, innerhalb welcher die Keimung vollzogen ist, mischt man den nun fertigen Koji mit neuem gedämpften Reis und soviel Wasser, daß ein dicker Brei entsteht, der Moto genannt wird. Die Stärkeverzuckerung erfolgt bei niedriger Temperatur, wobei sich die Masse stark verflüssigt. Schon nach wenigen Tagen setzt eine kräftige Gärung ein, die man zuerst bei etwa 20° hält und dann bei 30—35° weiterführt. Nach etwa 14 Tagen ist die Motobereitung beendet. In demselben ist reichlich Zucker neben Alkohol und Milchsäure vorhanden. Dieser Moto wird nun neuerlich mit gedämpftem Reis und Wasser zu einem Brei angemacht, der in Gärbottichen stehen bleibt und weitergärt. Nach einer 14tägigen Gärdauer wird das Gärgut gepreßt und die erhaltene Flüssigkeit geklärt, um dann konsumiert zu werden.

Die Zellen des Saccharomyces Saké sind groß und kugelig. Die Kardinalpunkte für die Sporenbildung sind: Optimum 30—32°, Maximum 40—42°, Minimum 3—4° C.

Saccharomyces cartilaginosus Lindner.

Diese Hefe stammt aus Kefirkörnern und bildet in Würze eine Bodensatzhefe von flockiger Beschaffenheit. Eine eigentliche Kahmhaut kommt nicht zur Ausbildung; es entstehen auf der Nährflüssigkeit nur kleine inselartige Zusammenlagerungen, die eine mehr knorpelige Beschaffenheit aufweisen.

Saccharomyces pyriformis Marsh. Ward.

Derselbe ist mit dem schon genannten Bacterium vermiforme bei der Gärung des Gingerbeer tätig. Das Ingwerbier wird in den Haushaltungen Englands im Sommer durch Vergärung einer mit Ingwer

versetzten Zuckerlösung bereitet. Es stellt ein stark schäumendes, säuerlich schmeckendes und erfrischendes Getränk dar. Die Hefe neigt zur Kahmhautbildung und besitzt dabei wurstförmige bis birnenförmige Gestalt.

Zur Untergruppe gehören noch einige minder wichtige Saccharomyceten, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll.

Untergruppe B.

Hierher gehören diejenigen Saccharomyceten, welche zwar Saccharose und Dextrose vergären, nicht aber Maltose und Laktose. Die wenigen Vertreter dieser Gruppe sind von keiner größeren Bedeutung, weshalb von ihrer näheren Besprechung abgesehen werden kann.

Untergruppe C.

Die wenigen in dieser Untergruppe vereinten Hefen vergären Dextrose und Maltose, während Saccharose und Milchzucker nicht angegriffen werden. Sie besitzen für die Praxis kaum eine Bedeutung.

Untergruppe D.

Dieselbe zählt zurzeit nur einen Vertreter, der dadurch ausgezeichnet ist, daß er nur Dextrose vergärt und nicht Maltose, Saccharose und Laktose.

Es ist der

Saccharomyces mali Duclaux,

welcher aus Zider isoliert wurde. Die sehr großen, 6—12 μ langen und 4—7 μ breiten Zellen siedeln sich in einem Bodensatz in der Nährflüssigkeit an. Sie sind sowohl gegen Säuren als auch gegen etwas höhere Temperaturen sehr wenig widerstandsfähig.

Untergruppe E.

Dieselbe umfaßt die speziell Milchzucker vergärenden Saccharomyceten.

Saccharomyces fragilis Jörgensen.

Es ist eine Kefirhefe, die neben Torula- und Bakterienarten aus diesem alkoholhaltigen Milchgetränk gezüchtet wurde. Sie besitzt kleine Zellen, die leicht die etwas länglichen Sporen ausbilden.

Untergruppe F.

Die zahlreichen, in diese Untergruppe eingereihten Hefen erzeugen keinen Alkohol. Übrigens ist die Stellung aller hier untergebrachten Saccharomyceten mit Ausnahme derjenigen von Saccharomyces Hansenii noch keineswegs sichergestellt. Ihre Herkunft ist ebenfalls außerordentlich verschieden. So wurde der Saccharomyces subcutaneus tumefaciens aus einer bösartigen Geschwulst gezüchtet. Wir finden hier auch für den Gärbetrieb schädliche Krankheitshefen, wie Saccharomyces pinophtorus melodus und Saccharomyces pinophtorus enervans, weiter den Saccharomyces theobromae, der bei der Fermentation der Kakaobohnen beteiligt ist und andere mehr.

2. Gattung: Hansenia Lindner.

Die Vertreter dieser Gattung besitzen im allgemeinen die Charaktere der Gattung Saccharomyces, nur ist ihre Zellform ausgesprochen zitronenförmig.

Hansenia apiculata Lindner.

Diese in der Natur sehr weit verbreitete Hefe ist über den Sommer und besonders zur Zeit der Reife der verschiedenen Beerenfrüchte auf diesen seßhaft und überwintert in der Erde, wo man sie, wie schon beim natürlichen Vorkommen der Hefen erwähnt, bis zu 30 cm Tiefe nachweisen kann. Sie stellt sich häufig bei den spontanen Weingärungen und Biergärungen zur Zeit der Hauptgärung ein, tritt aber bei der Nachgärung in den Hintergrund. Die Apikulatushefe hat zitronenförmige Zellen, sofern sie gut ernährt wird, während sich bei ungünstiger Ernährung auch gestreckte und ovale Zellformen einstellen.

Bei der Weingärung wird sie mitunter insofern sehr unangenehm, als sie bei noch niederem Alkoholgehalt des Mostes der Tätigkeit der anderen Kulturhefen hinderlich ist. Außerdem verzehrt sie gierig die Säuren und erzeugt flüchtige Säuren und Ester, die dem Wein einen eigenartigen, unangenehmen Geschmack verleihen und sein Bukett schädigen.

Ihr nahe verwandt ist die parasitische Apikulatushefe, Hansenia apiculata parasitica, die Paul Lindner in Schildläusen von der Myrte, dem Lorbeer, Efeu usw. nachwies. Eine weitere parasitische Hefe, die von Hartig in den massenhaft spontan eingehenden Nonnenraupen gefunden wurde, dürfte mit der vorgenannten wohl identisch sein. Sie fand sich in großer Menge in der Blutbahn aller erkrankten Nonnenraupen dieses Waldgebietes.

3. Gattung: Torulaspora Lindner.

Die torulaähnlichen, kugeligen Zellen enthalten in der Zellmitte einen großen Fetttropfen. Vorläufig gilt für diesen Typus nur ein Vertreter von untergeordneter Bedeutung.

4. Gattung: Zygosaccharomyces Barker.

Die Vertreter dieser Gattung unterscheiden sich von denjenigen der Gattung Saccharomyces dadurch, daß vor der Sporenbildung eine Verschmelzung zweier Zellen, also eine Kopulation eintritt.

Zygosaccharomyces Priorianus Klöcker.

Diese Hefe wurde aus dem Körper von Honigbienen gezüchtet. In Würzekulturen sind die jungen Zellen meist rund oder oval, seltener verlängert. Die sich bildende Bodensatzhefe ist eine gut zusammenhängende Masse. Die runden bis ovalen Sporen werden bei 16—18° am schnellsten erzeugt. Das Temperaturminimum für die Sporulation liegt zwischen 3 und 9°, das Maximum zwischen 27 und 28°. Die Hefe vergärt Dextrose und Maltose, während Rohrzucker und Milchzucker nicht vergoren werden.

Zygosaccharomyces Barkeri.

ist der vorgenannten Art in jeder Hinsicht sehr ähnlich, nur sind die Kardinalpunkte für die Sporenbildung etwas nach oben verschoben, denn

das Optimum liegt bei 25—27°, das Maximum bei 37—38° und das Minimum bei 13° C.

5. Gattung: Saccharomycodes Hansen.

Die mit einer Membran versehenen Sporen dieser Gattung keimen mit einem Promyzel, von dem die weitere Vermehrung durch Sprossung mit unvollkommener Abschnürung geschieht. Die Sprossung erfolgt in den Anfangsstadien wie bei den anderen Saccharomycesarten, später ist aber die Abschnürung der Sproßzellen nicht vollständig, sondern wird durch die Bildung einer Querwand ergänzt. Man beobachtet auch Myzelbildungen mit ausgesprochenen Querwänden.

Saccharomycodes Ludwigii Hansen.

Er wurde im Schleimfluß von Bäumen, besonders Eichen, entdeckt und bildet kräftig Alkohol, dessen Menge bis zu 10 Volumprozente erreicht. Bei der Zucht in Würze oder anderen Nährflüssigkeiten entstehen am Boden verschieden konsistente Zellanhäufungen, mitunter auch schimmelartige Flocken. Bei niederer Temperatur wird erst spät eine Kahmhaut ausgebildet, in der sich zahlreiche langgestreckte, wurstförmige Zellen zeigen. Die typische Zellform ist aber zitronenartig. Die Zellen sind groß und enthalten meist eine oder mehrere Vakuolen. Diese Art bildet sehr leicht, sowohl unter günstigen als auch ungünstigen Ernährungsbedingungen reichlich Sporen. Die Sporenmutterzellen sind länglich oval oder gestreckt und beherbergen in der Regel 2—4 runde Sporen. Die Sporulation erfolgt am raschesten bei 30° C, das Maximum dafür liegt bei 34° und das Minimum bei 3° C.

6. Gattung: Saccharomycopsis Schiönning.

Die Sporen der Vertreter dieser Gattung sind doppelt behäutet. Sonst besteht kein wesentlicher Unterschied gegenüber den anderen Saccharomycesarten.

Saccharomycopsis capsularis Schiönning.

Diese aus einer Wiese der Nordalpen der Schweiz stammende Hefe hat eiförmige bis wurstförmige Zellen und bildet Myzelien mit Querwänden aus. Die mehr kugeligen oder auch länglichen Sporenmutterzellen enthalten meist je vier große Sporen, deren Durchmesser 3,5—8 μ beträgt. Bei der Keimung reißt das Exospor meist mit ungleichen Lappen auf, worauf erst die eigentliche Keimung erfolgt, wie wir es bereits früher kennen gelernt haben. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt bei 25—28°, das Minimum bei 5—8° und endlich das Maximum bei 34,5—35° C.

II. Gruppe.

Die Arten dieser Gruppe sind durch das Vermögen ausgezeichnet, sehr schnell infolge Lufteinlagerung matt aussehende Kahmhäute zu erzeugen, wenn sie in zuckerhaltigen Nährlösungen gezüchtet werden. Sie bilden verschieden geformte Sporen, die nur einfach behäutet sind und vielfach an ihrer Oberfläche vorspringende Leisten tragen. Sie keimen

durch einfache Sprossung. Die meisten Vertreter dieser Gruppe vergären Zucker zu Alkohol, während einigen von ihnen die Fähigkeit mangelt. Häufig beobachtet man eine ausgiebige Esterbildung.

7. Gattung: Pichia Hansen.

Die Arten dieser Gattung erregen keine alkoholische Gärung. Sie bilden Myzelien. Ihre Sporen sind sehr verschieden gestaltet. Man findet runde, halbkugelige und sogar eckige.

Als ein Beispiel für die zahlreichen Arten dieser Gattung sei aufgeführt

Pichia membranaefaciens Hansen.

Diese Hefe konnte schon von verschiedenen Standorten isoliert werden. Die Sporen werden leicht erzeugt, denn sie bilden sich auch in großer Menge in den rasch entstehenden, sehr lufthältigen Kahmhäuten. Die Form der Sporen ist variabel, kugelig bis halbkugelig. Das Temperaturoptimum für die Sporulation befindet sich bei 30,5—31°, das Maximum bei 33,5—35° und das Minimum bei 2,5—7,5° C.

8. Gattung: Willia Hansen.

Die meisten Arten dieser Gattung erweisen sich als sehr wirksame Esterbildner. Einigen von ihnen fehlt das Vermögen, die alkoholische Gärung hervorzurufen. Ihre Sporen besitzen entweder Hut- oder Zitronenform und tragen eine hervorragende Leiste.

Willia anomala Hansen.

Diese Art wurde zuerst von E. Chr. Hansen aus einer unreinen bayerischen Brauereihefe gezüchtet und später auch aus englischem und belgischem Biere isoliert. Sie besitzt kleine Zellen von vorwiegend rundlicher Gestalt. In Bierwürze verimpft bildet sie rasch eine Kahmhaut und trübt bei der Gärung die ganze Flüssigkeit. In dem Gärprodukt erzeugt sie einen kräftigen fruchtesterartigen Geruch. Willia anomala ist an ihren Sporen sehr leicht kenntlich, die eine hutförmige Gestalt besitzen und eine ringsum laufende, vorspringende Leiste aufweisen. Im allgemeinen Teil über die Sporenform der Hefe findet sich auf Seite 199 die Abbildung derselben. Meist werden in jedem Askus 2—4 Sporen ausgebildet. Als Kardinalpunkte für die Sporenbildung können für das Optimum 30°, das Minimum 2,5—7,5° und für das Maximum 32—34° C gelten.

Willia Saturnus Klöcker.

Auch diese aus Erde des Himalaya stammende Hefe besitzt ganz eigenartig geformte und sehr leicht kenntliche Sporen. Die 4—6 μ langen Sproßzellen derselben sind meist kugelig oder elliptisch, seltener stärker verlängert. Auf Nährflüssigkeiten entsteht in kurzer Zeit eine faltige, weiße Kahmhaut. Die ziemlich großen Sporen besitzen eine zitronenförmige oder spindelförmige Gestalt und zeigen eine Leiste, die von einer Spitze zur andern verläuft, wie es auch aus Figur 88 auf Seite 199 zu entnehmen ist. Im Mittelpunkte jeder Spore sitzt ein stark lichtbrechendes Kügelchen. Die Kardinalpunkte für die Sporulation sind: Optimum 25°, Maximum 28—31,5° und Minimum 4—7° C. Bei der Gärung

durch diese Hefe, die sich auf Dextrose, Fruktose, Raffinose und Saccharose erstreckt, entsteht Essigester.

In diese Gattung werden noch einige Hefen eingereiht, von deren Besprechung abgesehen werden kann, da die beiden vorgenannten dieselbe genügend charakterisieren.

II. Schizosaccharomycetes (Spalthefen).

Zum Unterschied von den Sproßhefen, die wir bisher abgehandelt haben, findet bei den Schizosaccharomyceten oder Spalthefen die Vermehrung nicht durch Sprossung, sondern durch Ausbildung einer Querwand, wie bei den Bakterien, statt, was ja auch schon ihr Name aussagen soll. Auch bei ihnen kann jede beliebige vegetative Zelle zur Sporenmutterzelle, also zum Askus werden. In vielen Fällen tritt aber vor der Sporenbildung eine Verschmelzung zweier Zellen ein, die meist einen Fortsatz gegeneinander treiben. Beide Fortsätze berühren sich und an der Berührungsstelle werden die Zellwände eingeschmolzen. Vielfach kommt es aber zu keiner Fortsatzbildung, sondern zwei Zellen legen sich einfach aneinander, worauf an den Berührungsflächen eine Resorption der Membranen erfolgt. Durch diese Kopulationen entstehen dann die für die Schizosaccharomyceten so typischen Hantelformen und Bisquitformen der Zellen.

1. Gattung: Schizosaccharomyces Lindner.

Die Spalthefen dieser Gattung erregen durchwegs kräftig alkoholische Gärung und sollen kein Glykogen speichern. Sie stammen alle aus wärmeren Gegenden des Südens. Die Sporen zeigen bei der Behandlung mit Jodjodkaliumlösung eine Blaufärbung.

Schizosaccharomyces Pombe Lindner.

Diese aus dem Pombe, einem Hirsebier der Neger, isolierte Spalthefe besitzt längliche, an den Enden abgerundete Zellen, die längere Wuchsverbände ausbilden, wenn die durch Querteilung oder Spaltung entstandenen Tochterzellen aneinander haften bleiben. In älteren Kulturen herrschen die runden Zellformen vor.

Diese Spalthefe bildet bei höheren Temperaturen als Oberhefe wachsend reichlich Alkohol unter Vergärung von Dextrose, Rohrzucker, Maltose und Dextrin, während d-Mannose nicht vergoren wird. Wegen ihrer kräftigen Alkoholbildung, die in Maischen aus Rohrzucker, Kartoffelstärke und Malz 15,5 Volumprozent erreicht, und ihres guten Wachstums bei höheren Temperaturen arbeitet man mit gutem Erfolg mit ihr in südamerikanischen Brennereien.

Schizosaccharomyces octosporus Beijerinck.

Diese Art wurde auf der Oberfläche von getrockneten Weinbeeren aus der Türkei, aus Griechenland und Kleinasien gefunden. Sie scheint übrigens aus drei Rassen zu bestehen, von denen eine asporogen, die andere dagegen sporogen ist, während die dritte aus Zellen besteht, die teils Sporen erzeugen, teils nicht. Die Zellen dieser Hefe sind sehr groß, rundlich und bei der Teilung etwas verlängert. Daneben beobachtet

man auch sehr lange Zellformen, die entfernt an ein Myzel erinnern. In jeder Sporenmutterzelle kommen acht Sporen zur Ausbildung, wie schon der Name sagt. Unter günstigen Umständen können die Sporen schon im Askus keimen.

Saccharomyces octosporus verlangt zu seiner Vermehrung hoch zusammengesetzte Stickstoffverbindungen als Stickstoffquellen, wie sie natürlich in den Früchten (Rosinen) und auch im Malz vorliegen. Ammoniumsalze, Asparagin und Pepton erwiesen sich in dieser Hinsicht als nicht oder kaum merklich brauchbar. Diese sehr luftliebende Spalthefe, welche ein geringeres Gärvermögen besitzt als die vorgenannte, vergärt neben Dextrose, Fruktose, Maltose, Raffinose und α-Methylglukosid, was auch die anderen Spalthefen tun, noch Galaktose, während Rohrzucker und Inulin von ihr nicht vergoren werden kann.

Schizosaccharomyces mellacei Jörgensen.

Diese Spalthefe steht dem erstgenannten Schizosaccharomyces Pombe sehr nahe. Man züchtete sie aus Jamaika-Zuckerrohrmelasse. Sie weist sehr verschiedene Zellformen auf und vermag Dextrose, Maltose, Fruktose, Rohrzucker, Dextrin, Inulin und d-Mannose zu vergären, bildet aber nicht sehr kräftig Alkohol.

III. Saccharomycetenähnliche Pilze.

In dieser Pilzgruppe kann man hefeähnliche und den Saccharomyceten nahestehende Gattungen vereinigen, wie Mycoderma, Torula, Monilia, Chalara, Oidium und Dematium. Höchstwahrscheinlich stammen einige derselben unmittelbar von den Saccharomyceten ab.

1. Gattung: Mycoderma.

Die Arten dieser Gattung schließen sich in vielen Beziehungen den echten Saccharomyceten an, sowohl was ihre Form als auch ihre innere Organisation anlangt, ganz abgesehen von der vollkommen gleich verlaufenden Sprossung. Die sehr luftliebenden Mykodermen erzeugen sehr rasch an der Oberfläche der Nährflüssigkeiten ausgebreitete, lufthaltige Kahmhäute, weshalb man sie auch Kahmhefen oder Kahmhautpilze nennt. Die Form der Zellen ist vornehmlich gestreckt, wurstförmig. Alle verbrennen kräftig Alkohol und entalkoholisieren so die Gärprodukte, auf denen sie sich ansiedeln. Außerdem verzehren sie meist in hohem Maße organische Säuren. Sie selbst besitzen nicht die Fähigkeit, Zucker zu Alkohol zu vergären. Man trifft sie regelmäßig, wenn man Wein oder Bier in leicht bedecktem Zustande einige Tage bei nicht zu niedrigen Temperaturen stehen läßt. Alsbald erscheint die von ihnen erzeugte Kahmhaut. Die bekanntesten Mykodermen sind das Mycoderma cerevisiae Desm. und das Mycoderma vini Desm. Beide scheinen übrigens Sammelbegriffe für mehrere vorliegende Arten zu sein.

Mycoderma cerevisiae Desm.

Dieser Bierschädling, der es entweder trübt oder dem Biere ihm einen unangenehmen Geruch und Geschmack verleiht, erzeugt sowohl

auf Würze als auch auf Bier runzelige, mattaussehende und graue Häute. Nahe steht dem Mycoderma cerevisiae der von Lafar gefundene Kahmpilz, der in Bier Essigsäure erzeugt.

Mycoderma vini Desm.

Es umfaßt auch mehrere Formen, die teilweise schon isoliert und für sich untersucht sind. Alle Vertreter dieser Art bilden auf Wein kräftige Decken und sind ausgesprochene sehr gefürchtete Weinschädlinge.

2. Gattung: Torula.

Auch die Torulaarten besitzen in bezug auf ihre Form und Vermehrung durch Sprossung und auch durch ihre physiologischen Eigenschaften die größte Ähnlichkeit mit Saccharomyceten. Ihnen fehlt nur die Fähigkeit, endogene Sporen zu bilden; außerdem erzeugen sie keine myzelartigen Vegetationen. Man findet unter ihnen auch kräftige Alkoholbildner. Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche Torulaarten bekannt, auf die hier einzugehen, zu weit führen würde.

3. Gattung: Monilia.

Die Monilien stehen zwischen den Blastomyceten oder Sproßpilzen und den Schimmelpilzen. Dementsprechend bilden sie auch auf Flüssigkeiten Decken, die noch nicht ausgesprochenen Myzelcharakter haben, obwohl das Auftreten gefächerter und verzweigter Hyphen durchaus nicht so selten ist. Sie haben eher das Gefüge von lockeren Kahmhäuten, die leicht zerfallen.

Die gewöhnliche Wuchsform der Monilien ist das Sproßmyzel mit einem außerordentlichen Formenreichtum. Wir finden in einem alten Sproßmyzel neben kugeligen längere mykodermaartige Zellen und lange wurstartige, schlauchförmige Formen, die alle durchzogen werden von oidiumartigen Zellen und verzweigten Hyphen. Dabei ist es einerlei, ob man in flüssigen Nährsubstraten züchtet oder auf festen.

Ausgesprochene Fruktifikationsorgane fehlen den Monilien; eine Fruktifikation ist überhaupt nicht vorhanden, auch wenn z. B. die Monilia sitophila Lufthyphen treibt, die Konidienträgern ähneln, und Hefenkonidien aussprossen läßt, wie es bei *b* der folgenden Figur 99 auf Seite 256 zu sehen ist. Diese Art von Konidien unterscheidet sich aber in nichts von den gewöhnlichen vegetativen Zellen, außer in der Form. Die Spitzen, die man häufig an Schlauchzellen von Monilia variabilis und anderen beobachten kann, wie sie auch in der Figur 99 *g* zu sehen sind, könnte man bei einigem guten Willen als Sterigmen auffassen, auf denen die Hefenkonidien gesessen sind.

Der Zellinhalt der sprossenden Monilien ist wenig lichtbrechend, homogen und von großen Vakuolen durchsetzt, die ein elliptisches und lebhaft tanzendes Körnchen enthalten.

Als Beispiel seien hier von den vielen bekannt gewordenen Arten zwei angeführt und näher behandelt.

Monilia variabilis Lindner.

Dieselbe stellt vielleicht die formenreichsten Vertreter dieser Gattung vor. Sie wurde von Lindner auf einem Berliner Weißbrot gefunden, wo sie grauweiße, mehlartige Flecke erzeugte, die bei mikroskopischer Untersuchung sich als aus torulaähnlichen Zellen bestehend erwiesen, zwischen welchen lange zylindrische, leer erscheinende Zellen lagen, die an ihrer Oberfläche Höckerchen trugen und an denen noch einzelne torulaähnliche Konidien saßen. In der folgenden Figur 99 nach Lindner sehen wir die Pleomorphie dieses Organismus. Ein jugendliches Sproßmyzel mit schlauchförmig verlängerten Endzellen zeigt uns *a* dieser Figur, während *b* einem älteren Faden mit Hefenkonidien entspricht. *c* hingegen führt

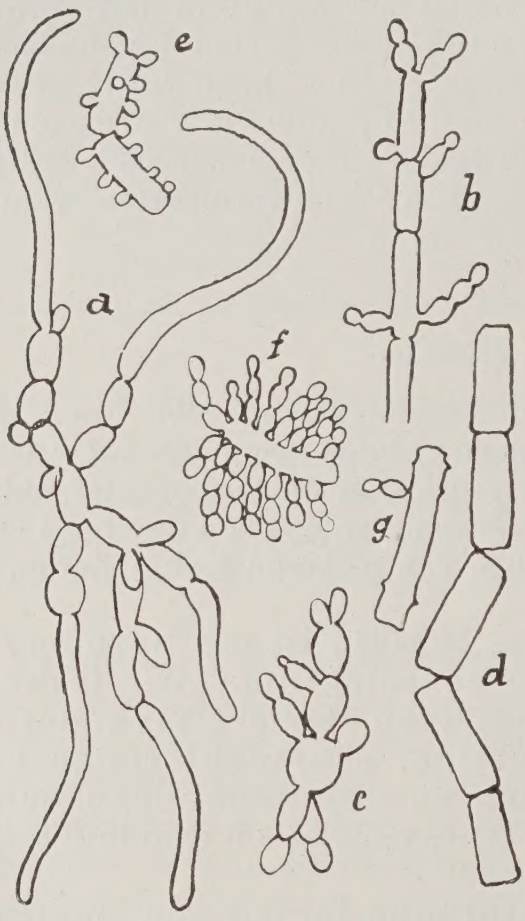


Fig. 99.

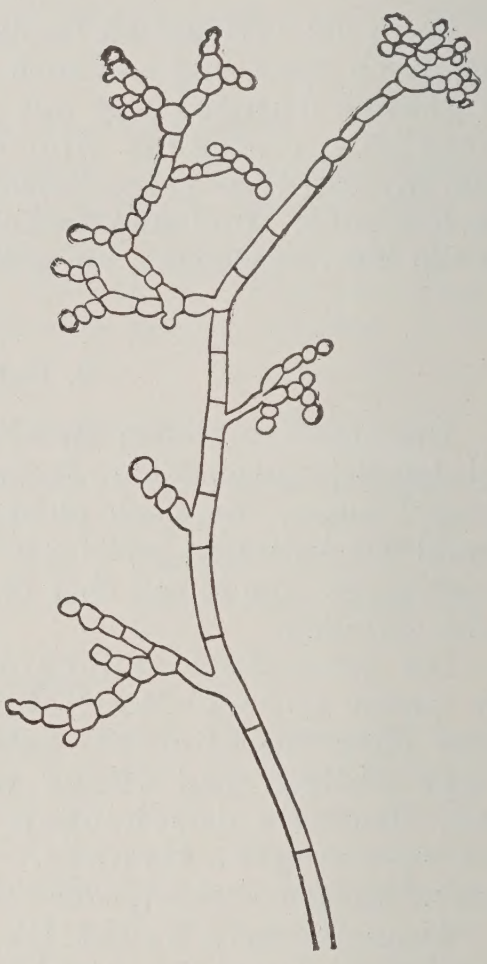


Fig. 100.

uns das überaus hefeähnliche Sproßmyzel vor Augen, während *d* den Zerfall einer älteren Hyphe in oidienartige Zellen demonstriert. An solchen Oidien entwickeln sich die torulaähnlichen Konidien, wie es in *e* wiedergegeben und auch aus *f* deutlich ersichtlich ist. Von solchen Oidienzellen, die oberflächlich in Flüssigkeiten sich befinden, gliedern sich auch torulaähnliche Konidien in die Luft ab, die man auch Luftzellen nennt. Überhaupt neigt Monilia variabilis beim Wachstum unter reichlichem Zutritt von Luft, also an der Oberfläche von Flüssigkeiten, zur Bildung von kugeligen, kleinen Zellen, während Sauerstoffmangel die Hefenform hervorruft. *g* zeigt uns endlich ein Oidium, das zahlreiche Höcker und Spitzen am Umfang aufweist, wo die torulaähnlichen Konidien ausgebildet worden waren, die aber bis auf eines bereits abgefallen sind. Diese Monilia

ist ein Gärungspilz und erzeugt in Bierwürze nach fünf Monaten 1,4 Gew.-Proz. Alkohol. Von ihr werden vergoren: Glukose, Fruktose, Galaktose, Trehalose, Saccharose, Maltose, Laktose, Raffinose, Dextrin, α- und β-Methylglukosid.

Monilia sitophila Saccardo.

Sie benutzen die Eingeborenen West-Javas zur Bereitung des Ontjom, einer beliebten Delikatesse aus den Samen der Erdnuß. Das Gericht stellt orangegelbe, kleine Kuchen vor, die aus dem durch und durch verpilzten Samen bestehen, auf dessen Oberfläche sich reichlich die Konodien finden. Diese Monilia durchzieht feste Nährsubstrate reichlich mit ihren gefächerten Hyphen und bringt dabei auch eine chemische Veränderung des Samens und eine Auflockerung desselben hervor. Sobald die reichverzweigten Hyphen die Oberfläche erreichen, erheben sich von ihnen kurze Hyphen in die Luft, die in großer Menge Konidien abschnüren. In Figur 100 sehen wir eine solche Lufthyphe von Monilia sitophila nach Went, mit sprossenden Hefenkonidien. Diese Konidien entstehen in der Weise, daß die Lufthyphen Querwände bilden und die so entstehenden Abschnitte sich abrunden und ablösen. Diese jungen eiförmigen, großen Konidien vermehren sich weiter durch alsbald einsetzende Sprossungen.

Dieser Pilz kann als ein wahres Museum aller möglichen Enzyme angesehen werden. Diesem außerordentlichen Reichtum an sozusagen allen bekannt gewordenen Enzymen verdankt er es auch, daß er sowohl anaërob als auch aërob überall und bei jeder Ernährung gedeihen kann. Allerdings bevorzugt er eine mindestens sehr geringe Sauerstoffspannung, denn beim Ausschluß jedwedes freien Sauerstoffes ist sein Wachstum sehr beschränkt. Unter allen Umständen, auch bei alleiniger Eiweißnahrung, erzeugt er reichlich Ester. Die Alkoholbildung durch ihn ist sehr gering.

Erwähnt sei noch die

Monilia javanica Went,

welche sich auch neben anderen Pilzen im „Ragi" findet, aber keinen besonders guten Arrak liefert, da von ihr zahlreiche flüchtige Gärprodukte gebildet werden, die den Geschmack und Geruch beeinträchtigen. In zuckerhaltigen Nährflüssigkeiten bildet diese Monilia zuerst eine Kahmhaut, worauf die alkoholische Gärung erst einsetzt, bei der im Maximum etwa 5% Alkohol erzeugt werden.

4. Gattung: Chalara.

Diese Gattung umfaßt nur die Art: Chalara Mycoderma Cienkowski.

Der Pilz wurde in Kahmhäuten auf Wein, Bier, Sauerkrautbrühe, Obstsäften u. dgl. gefunden. Das reich verzweigte Myzel desselben besteht aus langen Sprossen, an deren Berührungsstellen mehr kugelige bis elliptische Konidien abgeschnürt werden. Öfters sitzen dieselben auf kurzen, rudimentären Sterigmen. Die Konidien selbst messen 4—6 μ, selten bis 11 μ in der Länge.

5. Gattung: Sachsia.

Sachsia suaveolens Lindner.

Von P. Lindner wurde diese Art aus einem Brennereibottich reingezüchtet. In Würze bildet dieser Pilz große Flecken, die aus reichverzweigten, lockeren, sprossenden Fäden zusammengesetzt sind. Auf der Würzegelatine gezüchtet, entsteht ein blendend weißes Luftmyzel, das später zusammenfällt. Nur bei höherer Temperatur stellt sich eine alkoholische Gärung ein, die nach langer Dauer sehr viel Alkohol liefert. Vergärt wird von dieser Art: Glukose, Fruktose, Mannose, Galaktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Dextrin, Raffinose und β-Methylglukosid. Ausgezeichnet ist der Pilz durch die Bildung von einem Bukettstoff von sehr feinem Aroma, das an dasjenige des Moselweines sehr erinnert. Man nennt den Pilz deshalb auch Weinbukettschimmel. Wegen dieser Fähigkeit und dem Mangel der alkoholischen Gärung bei tieferen Temperaturen wurde dieser Pilz auch zur Herstellung eines bukettreichen, säuerlichen alkoholfreien Getränkes benutzt, das im wesentlichen ein Gemisch von Apfelsaft und Würze vorstellt. Die Säuerung besorgt Bacillus Delbrücki.

6. Gattung: Oidium.

Wir können die Gattung kurz mit Wichmann[1]) charakterisieren: „Die Arten der Gattung Oidium sind durch ein typisches Myzel charakterisiert, das aus gefächerten, unregelmäßig verzweigten Hyphen besteht, welche meist an den Enden, aber auch in der Mitte, in kurz-zylindrische Zellen von fast rechteckigem, nur an den Ecken etwas abgerundetem Umriß zerfallen. Sprossung kommt im Bereiche dieser Gattung nur ausnahmsweise vor.“ Von den bekannteren Arten sei hier näher hingewiesen nur auf das

Oidium lactis Fresenius.

Dieser als Milchschimmel bekannte, sehr weit verbreitete Pilz findet sich wohl fast immer auf saurer Milch, in die er aus den Molkereigeräten kommt. Desgleichen kann er mit Recht als konstanter Bewohner der Butter gelten. Weitere Standorte sind dann Mist, Abwässer, saure Gurken, Stärke usw.

Bei dem Wachstum des Pilzes in Nährflüssigkeiten und auch auf festeren Nährsubstraten entstehen bei der künstlichen Zucht dickfilzige pelzartige Rasen, von denen sich Hyphen in die Luft erheben, wenn die Kulturen alt sind. Auf den natürlichen Nährböden sehen die Deckenbildungen verschieden aus. Bald ist es nur ein weißer, feinfädiger Flaum, bald findet man eine mehlartige, trockene Auflagerung und selten auch eine solche von mehr schleimiger Beschaffenheit. Die Verflechtung kann so weit gehen, daß der ganze Belag gasdicht und von den darunter entstehenden Kohlensäuremassen gebläht wird. Dieses Myzelium wird von gefächerten, unregelmäßig und reich verzweigten Hyphen mit anfangs langen Zellen zusammengesetzt. Das jugendliche Myzel und das Auswachsen der Konidien ist durch schlauchförmige Zellen gekennzeich-

1) Wichmann, H., Die Monilien und Oidien. Lafars Handb. d. techn. Mykologie, Bd. 4, S. 342.

net. In Figur 101 nach Lindner sehen wir bei IV bei 600facher Vergrößerung eine reich verzweigte Hyphe mit noch schlauchförmigen Zellen. Später findet dann eine reichliche Querwandbildung statt, wie es V dieser Figur zeigt. In VI sehen wir endlich den Zerfall der septierten Hyphe in die fast rechteckigen Oidien, wodurch im Zickzack gekrümmte Ketten entstehen. Auch die Konidien besitzen die Oidienform. Ihre Bildung verläuft in der Weise, daß sich eine vom Substrat erhebende Hyphe nach Einstellung des Spitzenwachstums durch Einfügung von Querwänden in kurze Zellen teilt, die dann frei werden und sich erst vor der Keimung abrunden. Häufig tritt aber auch der Fall ein, daß durch Querteilung eines mittleren Hyphenstückes Konidien entstehen.

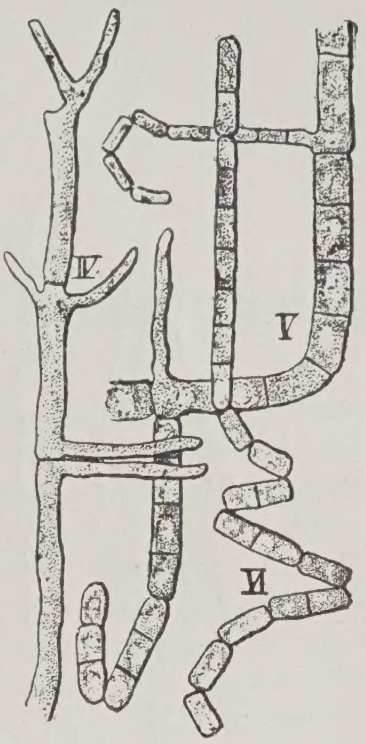


Fig. 101.

Auch Oidium lactis erregt die alkoholische Gärung, wobei aber nur geringe Mengen von Alkohol nach längerer Zeit gebildet werden, die 1% kaum übersteigen. Dextrose und Milchzucker werden entschieden am leichtesten vergoren. Milchsäure wird von den Oidien verzehrt, weshalb in saurer Milch der Säuregehalt sinkt. Oidium lactis greift auch die Eiweißkörper im allgemeinen stark an.

7. Gattung: Dematium.

Dematium pullulans de Bary.

Dematium ist ein häufiger Bewohner von Stroh und Mist, dann Gerste, weshalb er in der Brauerei vorkommt, und auch von Trauben und Obstfrüchten. Wir finden bei ihm ein vielverzweigtes, farbloses Myzel. Die einzelnen Glieder desselben erzeugen reichlich ellipsoidische Konidien, sofern die äußeren Verhältnisse des Nährsubstrates es zulassen. Gehemmt wird die Fruktifikation in über 50proz. Trauben- und Rohrzucker enthaltenden Lösungen und durch Temperatur über 30—31° C.

Beim freien Luftzutritt zur Nährflüssigkeit verwandeln sich die schlanken, ungefärbten Myzelzellen in bauchig aufgetriebene Formen, Gemmen, die sehr verdickte Zellwände von olivgrüner bis brauner Färbung bekommen. Im Plasma derselben fallen kleine und große Öltropfen in großer Zahl auf. Die Zellwände neigen zu sehr starken Verschleimungen, so daß das ganze Nährsubstrat eine fadenziehende Beschaffenheit annimmt. Bei Dematium pullulans beobachtet man auch eine Durchwachsung von Zellen, wobei ein Eindringen der Zellen des Myzeliums in benachbarte Zellen desselben Myzels erfolgt. Dadurch entstehen im Innern der Wirtszelle durch Abschnürungen der eingedrungenen Zelle zahlreiche Sproßzellen von ellipsoidischer Gestalt, die zur Annahme einer Askosporenbildung Veranlassung geben können. In Figur 102 *a*, *b* und *g* sieht man die eingewachsenen Zellen, welche bereits Konidien abschnüren. *f* könnte in der Tat ein viersporiges Sporangium vortäuschen. In *a* sieht man ein sprossendes Konidium.

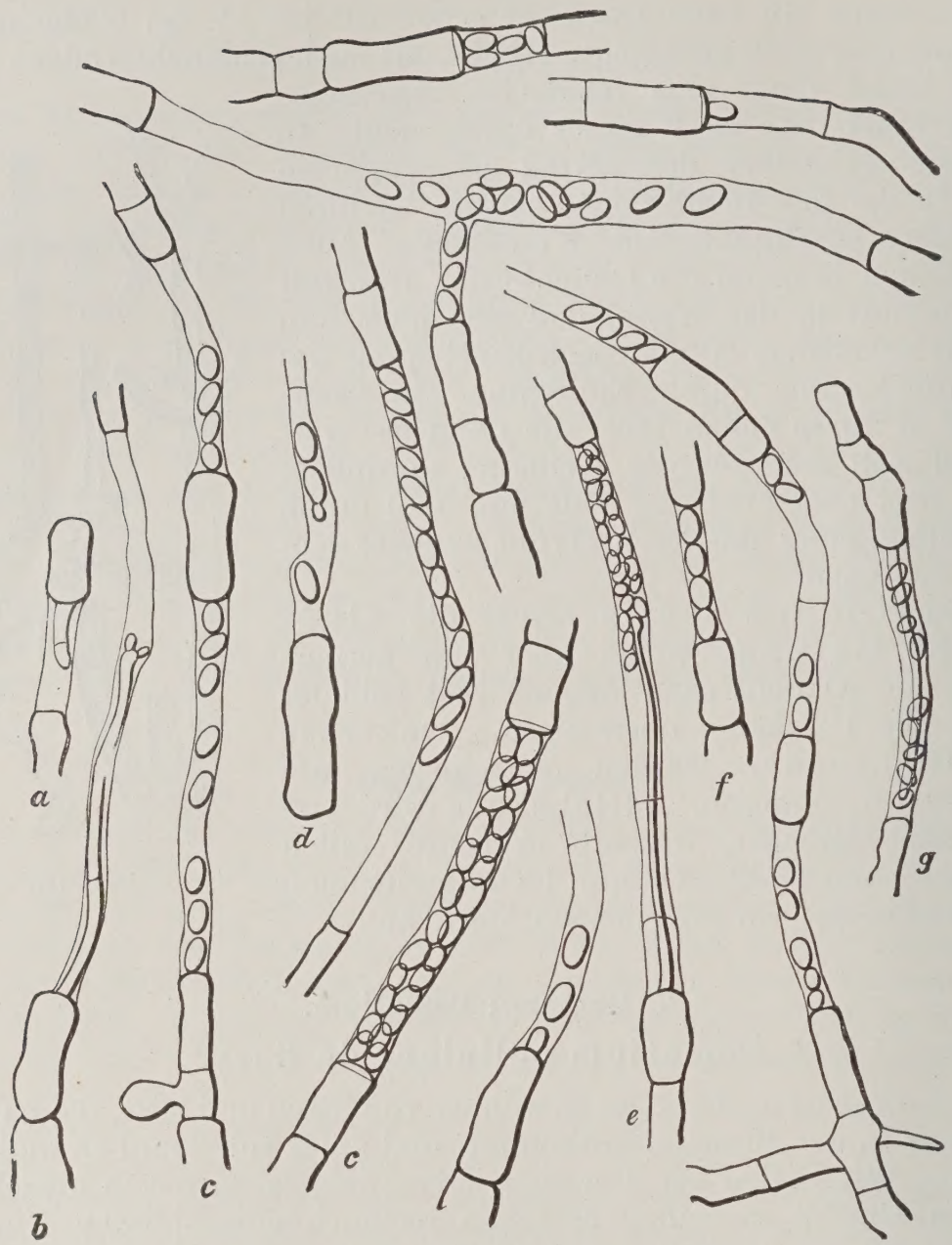


Fig. 102.

Diese Figur wie die anderen dieses Abschnittes sind dem Handbuche der technischen Mykologie von Lafar entnommen.

8. Gattung: Endomyces.

Endomyces fibuliger Lindner.

Er ist der Erreger der Kreidekrankheit des Brotes, wobei er auf demselben kreideweiße Beläge hervorbringt. Auf gärenden Flüssigkeiten bildet er durchfeuchteten Wattebäuschen ähnliche Myzelien. In Würze erzeugt er ebensolche, kräftige Decken und eine Bodensatzvegetation aus Sproßmyzelien und Gemmen. Die an Lufthyphen, die besonders auf festen Nährböden erzeugt werden, zur Abschnürung gelangenden Konidien besitzen an ihrer distalen Seite eine gleichmäßig runde Form, während die Abschnürungsstelle zugespitzt ist. Die Sporen sind hutförmig.

III. Abschnitt.

Morphologie und Physiologie der Schimmelpilze.

Unter Schimmelpilzen wollen wir jene echten Pilze zusammenfassen, die ein typisches Myzel als vegetatives Organ ausbilden. Mit Ausnahme weniger Gruppen, wie Saccharomyceten, Torula, Mykoderma usw., bilden die Eumyceten echte Verzweigungen. Dabei verstehen wir unter echten Verzweigungen eine Dichotomie des Scheitels einer Hyphe oder eine seitliche Ausbildung eines Astes unterhalb des Scheitels, wobei aber ein unmittelbarer Zusammenhang des Protoplasmas der Seitenäste mit demjenigen der Mutterzelle erhalten bleibt. Der ganze Pilzkörper oder Thallus zerfällt in der Folge in zwei allerdings zusammenhängende, aber in ihrer Funktion scharf zu trennende Teile, das Mycelium und das fruktifikative Organ, das die der Vermehrung der Art dienenden Sporen hervorbringt.

Das Myzel besorgt die Ernährung und sitzt dementsprechend dem Nährsubstrat auf oder verzweigt sich in demselben auf das reichlichste. Seine Entwicklung geht auf die Spore zurück. Wenn letztere auf günstige und brauchbare Nährsubstrate fällt, so keimt sie meist unter starker Quellung in der Weise, daß an einer oder mehreren Stellen ihrer Oberfläche Ausstülpungen hervortreten, die man als Keimschläuche bezeichnet. Nur in einzelnen Fällen werden an Stelle der Keimschläuche Sprossen oder Sproßkonidien ausgebildet, wie wir sie bei den Sproßpilzen als regelmäßig auftretend kennen gelernt haben. Die Keimschläuche wachsen in die Länge und verzweigen sich dichotomisch, bilden also Seitenäste, die sich wieder teilen, und so fort. Man bezeichnet nun diese Äste als Hyphen oder Pilzfäden. Das Längenwachstum derselben erfolgt nun nur an der Spitze oder am Scheitel, weshalb wir in allen diesen Fällen von reinem Spitzenwachstum sprechen, einer Erscheinung, die die Schizomyceten, wie wir es bei den Bakterien bereits kennen gelernt haben, nicht aufweisen. Es gibt nun Myzele mit querwandlosen und solche mit septierten Hyphen. In dieser Hinsicht verhalten sich die einzelnen Eumycetenordnungen verschieden, wenn wir das eine oder andere als regelmäßige Erscheinung anerkennen. Nach der Ausbildung eines unseptierten oder septierten Myzels teilt man die Eumyceten in zwei große Hauptgruppen, die Phycomyceten und Mykomyceten.

Die Phycomyceten oder Algenpilze bilden querwandlose oder unseptierte Myzelien, die Mykomyceten oder echten Fadenpilze dagegen septierte Mycelien.

Wir wollen uns zunächst die Entstehungsweise eines septierten, also mit regelmäßigen Querwänden versehenen Myzels aus der Spore näher betrachten. Die Einzelheiten zeigt uns auch Figur 103 gut, die aus dem Lafarschen Handbuch[1]) stammt, nach Zopf angefertigt ist und sich auf den weit verbreiteten und bekannten Pinselschimmel, Penicillium glaucum, bezieht. Aus der Spore *A* werden die Keimschläuche (in *B* und *C*) hervorgetrieben. Alsbald werden dieselben gegen die Spore durch Querwände abgegrenzt, wie es bei *s D* dieser Figur zeigt. Nunmehr verlängern sich die Keimschläuche durch Spitzenwachstum, und es wird in jedem Keimschlauch wieder eine Querwand oder ein

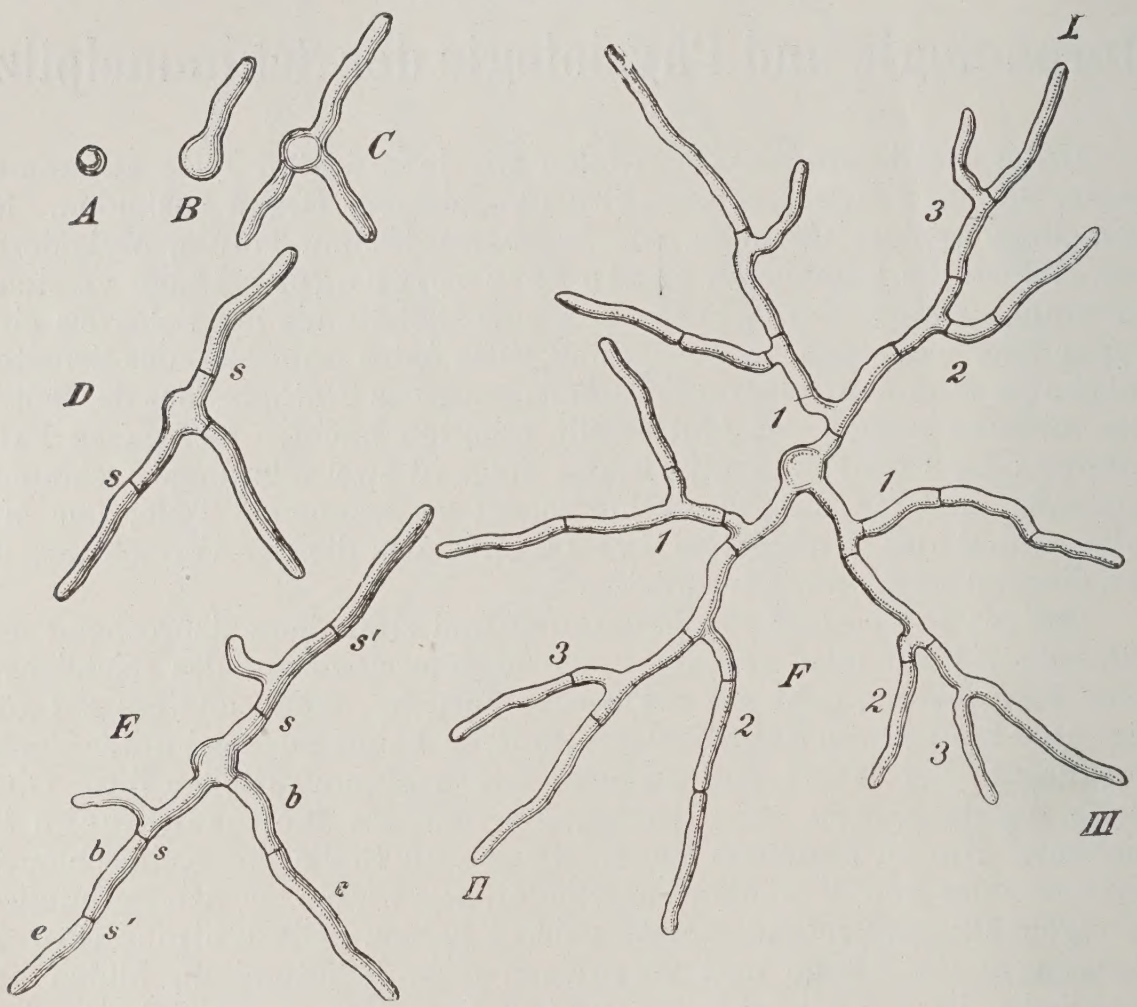


Fig. 103.

Septum, entsprechend *s'* in *E*, ausgebildet. Auf diese Art sind je zwei Zellen entstanden, von denen die zwischen *s* und *s'* liegende Binnenzelle (*b*), die vom Wachstumsmittelpunkt, also der Spore, entferntere, aber Scheitelzelle oder Endzelle (*e* in *E* der Figur 103) genannt wird. Die Binnenzellen weisen kein Längenwachstum mehr auf; von ihnen gehen aber Seitenäste aus, die sich wieder durch Querwände abgrenzen. Inzwischen sind die Scheitelzellen weiter in die Länge gewachsen und haben sich wieder durch Querwände in Binnenzellen zweiter Ordnung und Scheitelzellen geteilt, von denen erstere

1) Lafar, Handbuch der techn. Mykologie Bd. 1, S. 168; Lindau, G., Allgemeine Morphologie, Entwicklungsgeschichte, Anatomie und Systematik der Eumyceten.

wieder Seitenäste treiben. Inzwischen hat sich aber auch der Seitenast der ersten Binnenzelle verlängert und durch eine Querwand geteilt. So geht dies weiter, solange die Umstände für eine Vermehrung günstig sind. *F* der Figur 103 zeigt uns schon eine reichliche Verzweigung mit Seitenästen 1., 2. und 3. Ordnung und den Hauptästen I, II und III. Die Summe aller dieser Fäden entspricht also dem Myzel.

Das Myzel der Phykomyceten besitzt keine septierten Wände. Man kann deshalb beim Myzel auch nicht eine Vielheit von Zellen wahrnehmen. Es ist eine einzige, aber reichlich verzweigte Zelle, also ein Myzelschlauch. Unsere nach Kny wiedergegebene Figur 104 zeigt das Phykomycetenmycel am Thallus von Mucor mucedo und außerdem drei verschieden alte und ausgebildete Sporangienträger (*a*, *b* und *c*). Auch dieses Myzel ist aus einer einzigen Spore hervorgegangen; man sieht in der Mitte das Wachstumszentrum, von dem aus sich die un-

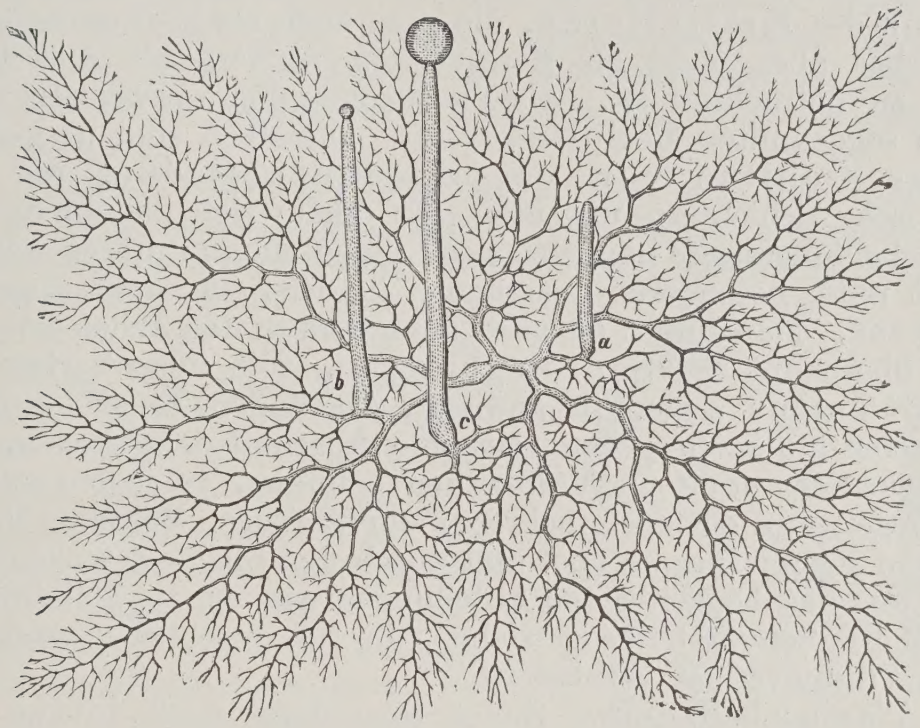


Fig. 104.

septierten Hyphen ausgebildet haben. Wenn auch eine Aufteilung der Hyphen durch Querwände in den Zellen hier fehlt, so findet doch nicht allzu selten eine Querwandbildung statt, die aber entweder zur Ausschaltung verwundeter Hyphenteile dient oder zur Abgrenzung des plasmareichen Teiles der Hyphen gegen den proximal gelegenen plasmaarmen. Beim Spitzenwachstum der Hyphen fließt das Zytoplasma mit seinen Kernen und Inhaltsstoffen ebenfalls distal dem Scheitel zu. Es findet so eine Abtrennung des für Ernährungszwecke nicht mehr brauchbaren Teiles statt. Aus diesem Grunde heißen solche Septen auch Kammerungswände. Auch die Fruchtständer werden durch solche Kammerungswände abgegrenzt, wenn sich genügendes Nährmaterial in ihnen angesammelt hat.

Durchwachsungserscheinungen an benachbarten Hyphen sind oft zu bemerken und treten bei einzelnen Arten besonders häufig

auf. Wir haben Näheres darüber schon bei der Besprechung von Dematium auf Seite 259 gehört.

Die Zelle der Schimmelpilze besteht, wie jede andere Zelle, aus einem Protoplasma mit seinen Einschlüssen und einer Zellhaut.

Das Plasma stellt eine homogene, mehr zähe Grundmasse vor. Dasselbe häuft sich besonders an den Stellen des Wachstums, also an den Scheiteln und dort, wo Seitenäste getrieben werden, an. Es läßt sich durch Plasmolyse von der Zellhaut trennen. Das Plasma befindet sich ständig in einer mehr oder minder starken Strömung und kann, der Zellhaut entkleidet, auch amöboide Bewegungen ausführen. Immer enthält es eine Reihe von geformten Einschlüssen, die sich der Hauptmenge nach mit denjenigen der Bakterien und Hefen decken.

Außerdem beobachtet man im Plasma Kristalle von oxalsaurem Kalk, allerdings ein seltener Befund. Die meisten Einlagerungen kristalloider Natur sind eiweißartige Körper, wie die Substanz der Kristalloide, die man auch als Mucorin bezeichnet hat, welches aber nicht als Reservestoff, sondern als Ausscheidungsprodukt zu betrachten ist. Als Plasmaeinschlüsse erwähnenswert sind auch die sogenannten Zellulinkörner. Dieselben sind ungefärbte, kugelige Gebilde von verschiedener Größe, die mehrere konzentrische Schichten aufweisen. Es dürfte sich bei ihnen ebenfalls um Ausscheidungsstoffe handeln, wenn ihnen auch mitunter eine gewisse Tätigkeit unter besonderen Umständen in der Zelle nicht abgesprochen werden kann. Man findet sie ganz besonders in den Zellen von Leptomitus, überhaupt bei Saprolegniaceen. Die unseptierten Hyphen von Leptomitus zeigen in gewissen Abständen Einschnürungen, so daß einzelne äußerlich gekennzeichnete Abschnitte entstehen, die sich aber miteinander in offener Verbindung befinden. In jedem solchen Abschnitt liegen nun ein oder mehrere Zellulinkörner. Bei einer Verletzung der Hyphe strömt Plasma aus, und durch den Strom des nachtretenden Plasmas aus den benachbarten Abteilungen werden die Zellulinkörner in die verengten Schnürstellen getrieben, die sie verschließen und so einen weiteren Plasmaverlust verhindern.

An Plasmainhaltsstoffen findet man dann noch fettes Öl und Fette, die aber nicht nur in Hyphen auftreten sondern auch in den Sporen. Die Öleinschlüsse sind meist farblos, mitunter aber auch gefärbt.

Für die Kerne der Schimmelpilze gilt in weitem Umfange das, was wir über die Hefekerne bereits berichtet haben. Die Anzahl derselben in den Zellen der verschiedenen Arten ist aber verschieden und abhängig vom Entwicklungszustand.

Die Zellhaut umgibt allseits das Protoplasma und wächst bei den Myzelpilzen auch nur an der Vegetationsspitze, während diejenige der Binnenzellen für gewöhnlich keine Längsstreckung mehr aufweist. Die Membran der unseptierten Hyphen zeigt die gleichen Wachstumsverhältnisse. Häufig beobachtet man Verdickungen der Zellwand, die meist durch Anlagerung neuer Membranstoffe von Seite des Protoplasten zustande kommen. Diejenigen Zellen, die in anderen entstehen, wie die Endosporen, erhalten Verdickungen ihrer Wände durch Anlagerungen von außen her, die die Form von Höckern, Stacheln, Leisten usw. besitzen.

An den Querwänden treten Poren oder Tüpfel auf und auch feine Kanäle, welche samt und sonders der Vermittlung des Stoffaustausches zwischen den Zellen dienen.

Besonders bei alten Membranen finden Farbstoffeinlagerungen in dieselben oder Auflagerungen von Kristallen statt. Letztere bestehen meist aus oxalsaurem Kalk. Daneben finden noch Ausscheidungen von Sekretstoffen in oder auf die Zellwand statt, von denen harzartige Körper nicht zu seltenen Befunden zählen.

Wir wollen uns noch kurz mit den Vermehrungsorganen oder Fruktifikationsorganen beschäftigen. Dieselben erzeugen eine Zelle, aus der unter günstigen Bedingungen ein Pilz derselben Art hervorgeht. Man bezeichnet solche Zellen, die gewöhnlich sich durch eine derbere Umhäutung und durch größere Widerstandskraft gegen ungünstige Einflüsse und auch durch ein gewisses Ruhestadium auszeichnen, als Sporen. Sie werden im allgemeinen auf zweierlei Art ausgebildet. Wenn vor ihrer Produktion zwei mehr oder minder verschiedene Zellen verschmelzen, so spricht man von geschlechtlicher Fortpflanzung. Das Fehlen der Fusion zweier Zellen findet sich bei der ungeschlechtlichen Vermehrung.

Bei einigen Saccharomyceten haben wir eine geschlechtliche Fortpflanzung schon kennen gelernt. Sie findet sich auch bei den Phycomyceten. Bei derselben können zwei vollständig verschiedene Zellen fusionieren, das Oogon und Antheridium, oder es findet eine Verschmelzung von zwei gleichwertigen Zellen statt, in welchem Falle man von Zygosporenbildung spricht. Man faßt die sich unter dem ersten Typus vermehrenden Pilze als Oomyceten zusammen, während die bei der Fortpflanzung dem zweiten Typus folgenden Phycomyceten in die Klasse der Brückenpilze oder Zygomyceten zusammengezogen werden. Letztere enthalten zahlreiche für die Gärungsbetriebe wichtige Arten.

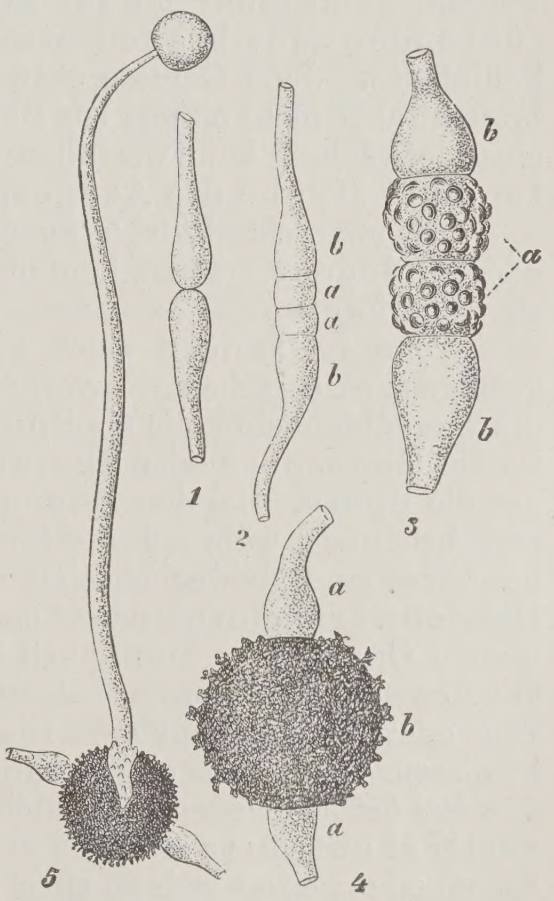


Fig. 105.

Wie wir schon betont haben, entstehen die **Zygosporen** durch Verschmelzung von zwei gleichwertigen Zellen. Wir wollen die Bildung derselben am Mucor mucedo verfolgen. In Figur 105 sind die verschiedenen Stadien derselben nach Brefeld abgebildet. Zwei Hyphen wachsen gegeneinander, bis sich die beiden Scheitel berühren. Dabei sammeln sich in denselben zahlreiche Kerne und viel Protoplasma, und ihre Spitzen nehmen eine keulenförmige Gestalt an. In 1 der Figur 105 sehen wir die keulenförmigen Scheitel bereits in Berührung. An der Berührungsstelle findet eine Abplattung und Verwachsung der Zellhäute

statt. Hierauf wird an der Grenze des kolbig verdickten Scheitelteiles und der zugehörigen Hyphe eine Querwand eingefügt, wodurch je eine Binnenzelle (*bb*) in 2 der Figur 105 entsteht, die auch Tragzelle oder Suspensor genannt wird, und je eine Scheitelzelle, die Gamete oder Kopulationszelle heißt (*aa* in 2 der Figur 105). Nunmehr wird die Membran zwischen den beiden Gameten eingeschmolzen und ihr Inhalt fusioniert. Die jetzt entstandene Zelle ist die Zygote oder Zygospore, die allerdings in diesem Stadium noch die Entwicklung aus zwei Gebilden gut erkennen läßt, wie es auch Figur 105 in 3 zeigt. Die Zygote entspricht *a*. Alsbald erfolgt die Abrundung und die Membran verdickt sich stark, während ihre äußere Oberfläche eine warzige Beschaffenheit erlangt. Die Zygospore wird von einer doppelten Membran umkleidet, dem inneren Endosporium und äußeren Exosporium. In 4 der Figur 105 sehen wir die bereits dunkel gefärbte und nunmehr reife, noch an den Suspensoren hängende Zygote, die alsbald von letzteren abfällt und ein Ruhestadium durchmacht. In 5 der Figur 105 sehen wir die Keimung der Zygote, die in diesem Falle zur Bildung eines Sporangienträgers führt.

Die Parthenosporen oder Azygosporen gleichen im fertigen Zustande in ihrer Form den Zygosporen, sind aber nicht durch Verschmelzung zweier Zellen entstanden. Bei ihrer Bildung können alle Stadien einschließlich der Bildung von Suspensor und Gameten durchlaufen werden. Nunmehr findet aber keine Resorption der sich berührenden Membranen statt und mithin auch keine Fusion der Zellinhalte. Jede Gamete entwickelt sich für sich zu einer Spore. Es braucht aber nicht einmal zur Berührung zu kommen, ja sogar das Gegeneinanderwachsen kann wegfallen, und es bildet sich einfach am Scheitel einer Hyphe die Azygospore von der Form der Zygote aus.

Die **ungeschlechtliche Sporenbildung** ist entweder eine exogene oder endogene. Dazu kommt noch die Umformung von Myzelzellen zu Dauerformen.

Wenn im Innern einer Pilzzelle Dauerformen zur Ausbildung gelangen, so sprechen wir von **endogener Sporenbildung** und bezeichnen die sporenbildende Zelle als Sporangium. Die fertige Dauerform selbst ist die Endospore oder Sporangiumspore oder endlich kurz bezeichnet die Spore. Bei den Phycomyceten ist dieselbe stets unbeweglich und behäutet, während die Sporen der Oomyceten, welche Wasserbewohner sind, beweglich sind und als Zoosporen bezeichnet werden. Die Schwärmsporen oder Zoosporen sind unbehäutet und können aus diesem Grunde ihre Form auch bis zu einem gewissen Grade verändern. Die Bewegung wird durch Geißeln hervorgebracht, die sich meist nur in der Ein- oder Zweizahl finden. Die sporenerzeugende Zelle bezeichnet man in diesem Falle auch als Zoosporangium.

Bei der endogenen Sporenbildung zweigt sich vom Myzel eine Hyphe vertikal aufwärts strebend ab und wird zum Träger. Das freie Ende desselben erweitert sich zu einer Kugel oder Blase, in die hinein reichlich Plasma strömt, wodurch der Träger arm an Inhaltsstoffen wird. Nunmehr wird durch eine Querwand die entstandene Kugel vom Träger abgegrenzt, wobei die Wand sich meist stabförmig in die Endblase hineinwölbt. In Figur 106 sehen wir das Sporangium von Mucor mucedo nach Brefeld im optischen Schnitt abgebildet. *c* entspricht der

vorgewölbten Wand, die, in ihrer Form an ein Säulchen erinnernd, auch Columella genannt wird. Aus dem zwischen letzterer und der Wand der Scheitelzelle (*e* und *m* der Figur 106) befindlichen Plasma und Kernmassen wurden die zahlreichen Sporen (*sp* der Figur 106) in der Weise erzeugt, daß ein Kern für jede Spore zur Verwendung gelangt, wobei in vielen Fällen noch ein Plasmarest übrigbleibt. Derselbe scheint durch Quellung die Sprengung der Sporangiums und Befreiung der Sporen herbeizuführen. Die Zahl der Sporen, ihre Größe und auch diejenige des Sporangiums ist sehr verschieden und in erster Linie von den Ernährungsbedingungen abhängig.

Die einfachste Form der mehr regellosen Sporangienbildung hat aber bei den Pilzen sich zu besonders geregelten Bildungen von Sporenbehältern entwickelt, die man als Askus oder Schlauch bezeichnet, und von denen wir schon einiges bei der Hefe kennen gelernt haben, wenn auch gerade hier die Verhältnisse noch etwas unklar sind. Der Askus ist also ein Sporangium, das in bezug auf seine Form und Größe und auf diejenige der darin erzeugten Sporen eindeutig und für die Art einheitlich bestimmt ist. Auch in bezug auf den

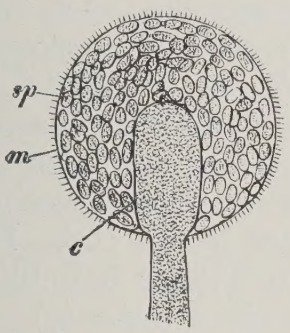


Fig. 106.

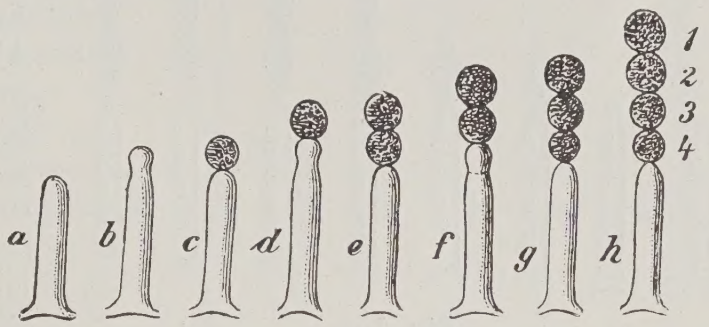


Fig. 107.

Ort der Ausbildung des Askus und die feineren Kernvorgänge im Innern herrscht eine gleiche Gesetzmäßigkeit, die auch für die Anzahl der entstehenden Sporen gilt. Wir haben also im Askus eine höhere Form der Sporangiums. Der Austritt der Sporen erfolgt nicht durch ein einfaches Platzen der Membran, sondern ist meist an die Spitze des schlauchförmigen oder zylindrischen Askus verlegt, an der eine Aufweichung und Lösung der Haut erfolgt. Man vereinigt nun diejenigen Pilze, die solche höher ausgebildete Sporangien aufweisen, zur Klasse der Ascomyceten oder Schlauchpilze.

Eine noch höhere Ausbildung erlangt der Askus durch Zusammentreten mehrerer Asci zu einem Schlauchlager.

Die **exogene Sporenbildung** ist nun dadurch gekennzeichnet, daß die Spore außerhalb der Zellen durch Abschnürung entsteht. Man bezeichnet so gebildete Sporen als Konidien und die Zelle, von der sie abgeschnürt werden, als Konidienträger oder kurzweg Träger. Die Konidien leiten sich aber in morphologischer Hinsicht ihrer Entstehung von dem Sporangium ab.

Die Bildung der Konidien verläuft nun in verschiedener Weise und folgt dabei drei Grundtypen, die wir kurz betrachten wollen.

Der erste Typus ist im Schema nach Zopf in der Figur 107 wiedergegeben. *a* zeigt uns den Träger, der an seiner Spitze eine Ausstülpung bekommt, die durch eine Querwand abgeschnürt wird, wie es *b* und *c*

der Figur zeigen. So ist die erste Konidie entstanden. Der Träger verlängert sich nun um ein Stück von der Länge der ersten Konidie und schnürt die zweite Spore ab, entsprechend *d* und *e* der Figur. Dieser Prozeß wiederholt sich noch öfter, wodurch eine Kette von Konidien entsteht, wie es *f*, *g* und *h* der Figur 107 erkennen lassen. Von den gebildeten Konidien ist also die oberste (1) die älteste und die an dem Träger grenzende (2) die jüngste. Die zeitliche Abfolge der Entwicklung ist also von der Spitze gegen die Basis des Trägers gerichtet, die Entstehung also basipetal, wobei sich die Länge des Trägers nicht ändert. Wir finden diese Konidienbildung bei den bekannten Schimmelpilzen Aspergillus und Penicillium.

Der zweite Typus der Konidienbildung ist dadurch gekennzeichnet, daß der Träger bei der Ausbildung der Spore sein Längenwachstum gänzlich einstellt. In Figur 108 ist der Vorgang nach Zopf schematisch dargestellt. Den erwachsenen Träger zeigt uns *a*. In *b* sehen wir an der Spitze die Ausstülpung, die nach ihrer Abschnürung zur Spore wird (*b* und *c*). Nun schnürt die Konidie selbst eine zweite Konidie ab, die wieder eine dritte treibt usf., entsprechend *d* bis *h* der Figur 108. Hier ist die am Träger befindliche Konidie die älteste (1) und die äußerste die jüngste (5). Die Konidienfolge ist in diesem Falle also basifugal oder akropetal.

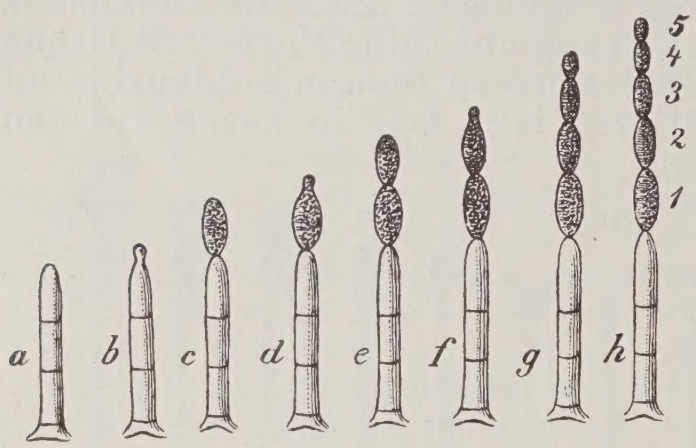


Fig. 108.

Der ziemlich seltene dritte Typus der Konidienentwicklung ist dadurch charakterisiert, daß eine Verkürzung des Trägers im Verlaufe der Abschnürung der Konidien eintritt. Es wird einfach für jede Spore von der Spitze zur Basis ein Stück des Trägers durch eine Querwand abgeschnürt, wodurch Ketten von Konidien zustandekommen.

Die **Keimung** der reifen Sporen verläuft im allgemeinen ziemlich gleich. Bei dünner, einfacher Haut derselben bildet sich eine Ausstülpung, die zum Keimschlauch wird. Bei doppeltbehäuteten Sporen tritt der Keimschlauch entweder nach Zerreißung des Exosporiums wie bei den einfach behäuteten Formen aus oder aber durch vorgebildete Öffnungen des Exosporiums. Aus der Spore bildet sich über den Keimschlauch das Myzel. Bei den Zygosporen bildet der Keimschlauch dann sofort einen Fruchtträger aus, wenn dieselbe sich frei an der Luft befindet. Unter Flüssigkeiten bildet sie aber den Ausgangspunkt für ein Myzel.

Die Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen ist bei den Sporen der einzelnen Arten außerordentlich verschieden und erstreckt sich von wenigen Monaten bis auf viele Jahre. Auch in bezug auf die Resistenz gegen Erwärmungen zeigen sich größere Verschiedenheiten. Auch hier gilt die Regel, daß in trockenem Zustande bedeutend höhere Hitzegrade ertragen werden als in feuchtem Zustande. Im allgemeinen wird in letzterem Falle eine kurze Erhitzung auf 100° nicht

lebensfähig überdauert. Niedrigen Temperaturen gegenüber erweisen sich die Pilzsporen als sehr widerstandsfähig.

Nachdem wir uns in groben Umrissen über die Morphologie der Schimmelpilze orientiert haben, wollen wir uns mit einigen besonders verbreiteten und wichtigen Arten ein wenig näher beschäftigen. Zunächst sei auf einige **Aspergillusarten** hingewiesen.

Technisch wichtig ist der Aspergillus Oryzae Cohn, mit dem man in Japan den Reiswein (Sakè) bereitet und Soja-Sauce und Miso herstellt. Wir verdanken Wehmer eine eingehende morphologische Untersuchung dieses Pilzes, von dem auch die die Entwicklungsformen dieses Pilzes wiedergebende Figur 109 stammt. Aspergillus Oryzae bildet mäßige, meist gelblich-grüne, seltener gelbe Schimmeldecken aus, von denen sich dichtstehend die bis zu 2 mm langen Konidienträger erheben. Alte Decken zeigen eine braune Verfärbung. Am Träger sitzt eine keulenförmige bis kugelige Blase, die aus einer Anschwellung desselben hervorgeht, wie es 3—5 der genannten Figur zeigt, wo in 4 und 5 auch schon die Sterigmenausstülpungen zu sehen sind. Die meist radiär gestellten, bei kleineren Trägern aber mehr auf die Kuppe konzentrierten Sterigmen schnüren die 6—7 μ dicken, glatten, kugeligen und gelbgrünen Konidien in Ketten ab, die alsbald zerfallen. 1 der Figur 109 zeigt uns einen mit Konidien reichlich beladenen Träger, 1 *a* den kräftigen Stiel. 2 gibt im optischen Schnitt den Konidienträger mit der Blase und den ausgestülpten Sterigmen wieder; von letzteren gibt uns *b* ein Bild, wo bereits eine halbfertige Konidie vom Sterigmen in Abschnürung begriffen ist. 7 zeigt einen Konidienrasen bei schwacher Vergrößerung und 8 die Konidien selbst, aber bei 900facher Vergrößerung.

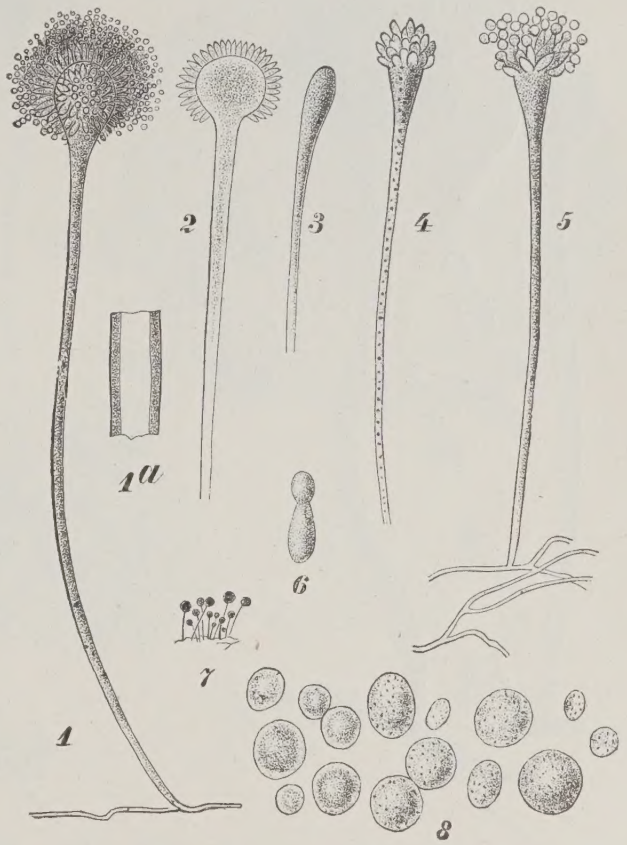


Fig. 109.

Aspergillus Oryzae ist sehr reich an Amylase, weshalb er sehr kräftig Stärke verzuckert. Aber auch viele andere Kohlehydrate und Glykoside spaltende Enzyme enthält dieser Aspergillus reichlich, wie alle anderen Aspergillaceen, bei deren Tätigkeit auch Säure produziert wird. Wenn auch für diesen Pilz eine sogar kräftige alkoholische Gärung einmal angegeben wird, so scheint ihm doch eine nennenswerte Gärkraft nicht inne zu wohnen. Das gleiche gilt für die übrigen Aspergillaceen, mit Ausnahme der Allescheria Gayoni.

Ein Kosmopolit im vollen Sinne des Wortes ist der Aspergillus glaucus Linke. Dieser Schimmel siedelt sich überall auf Brot, trockenen Pflanzen, überhaupt Vegetabilien, Leder u. dgl. an. Die jungen, mit

Konidien besäten Rasen sind hellgrün, dunkeln aber bald nach und werden dann schmutzig graugrün bis graubraun verfärbt. Im Myzel sondert der Pilz hellgelbe Farbstoffbröckelchen aus, die sich auch alsbald ins schmutzig rostbraune verfärben. Mitunter findet man Pilzrasen, die ausschließlich goldgelbe Perithecien tragen, was man häufig an Decken beobachtet, die sich auf Kompotten, wie eingemachten Preißelbeeren usw., ausbilden. Unter Perithecien verstehen wir dem Myzel aufliegende kugelige Früchte mit einer außen besonders differenzierten Wand und einem inneren Hohlraum, in dem die Schläuche entstehen. Unsere Figur 110 zeigt uns nach de Bary und Wehmer Entwicklungsstadien des grünen Schimmels. In 5 dieser Figur sehen wir ein Myzelstück, auf dem reichlich Perithecien

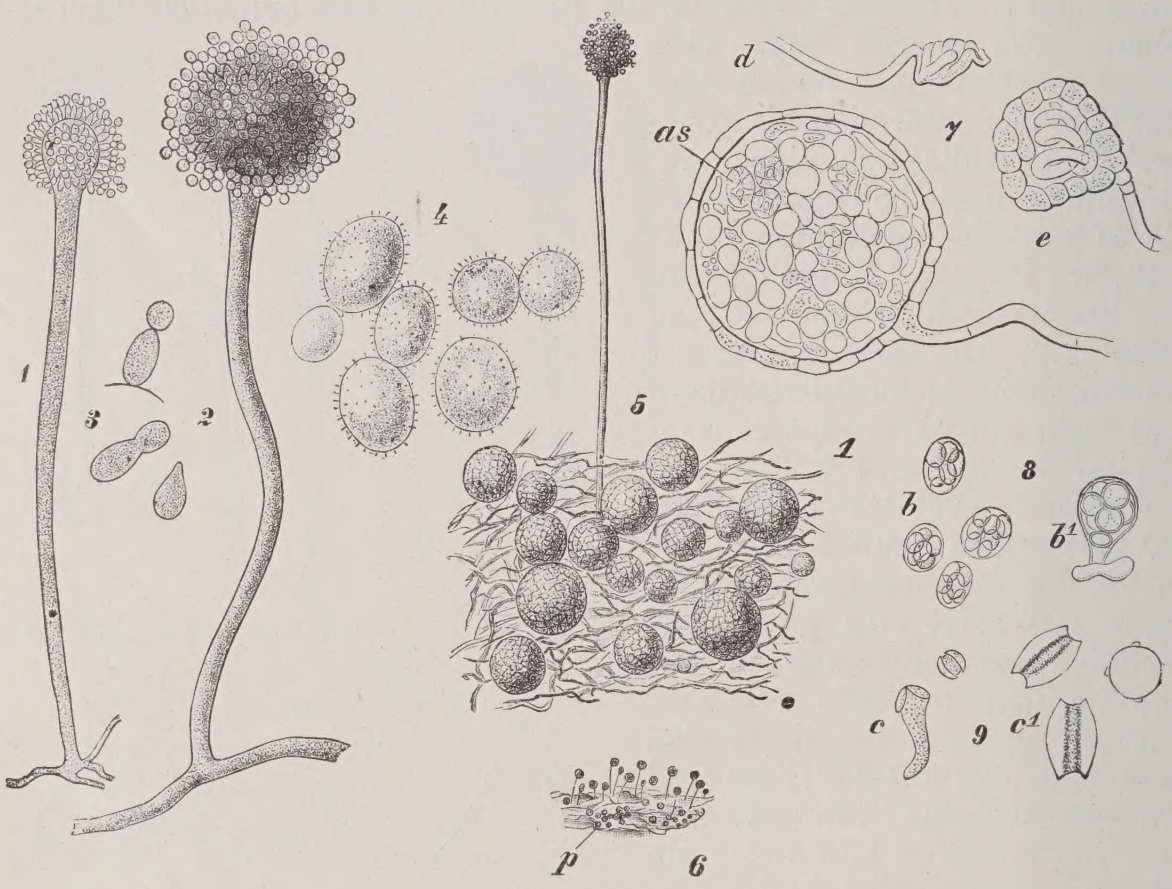


Fig. 110.

liegen, während ein Konidienträger sich erhebt. 7 zeigt uns die Entwicklung der Frucht und den Querschnitt eines mit jungen Schläuchen (*as*) und Entwicklungsstadien von Asci gefüllten Peritheciums, während 8 isolierte Asci mit den innen befindlichen Sporen und 9 die freien Sporen im Ruhezustand und bei *c* während der Keimung wiedergibt. Die Konidienträger sind derb und schon mit freiem Auge sichtbar, wie die in natürlicher Größe wiedergegebene Zeichnung 6 der Figur 110 erkennen läßt, in der auch Perithecien (*p*) zu sehen sind. Auf einer vom Stiel nicht scharf abgesetzten Blase befinden sich an der ganzen Oberfläche die unverzweigten, radiär angeordneten Sterigmen, von denen sich die großen, mit feinen Stacheln besetzten Konidien abschnüren. 1 und 2 zeigen die Konidienträger, 3 Sterigmen und 4 endlich die Konidien selbst.

Aspergillus glaucus bevorzugt im allgemeinen wasserärmere, aber höhere Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen enthaltende Nähr-

substrate und gedeiht am besten bei niederen Temperaturen um 15 bis 18° C.

Ein anderer, ebenfalls außerordentlich häufiger Schimmelpilz ist das **Penicillium glaucum**, der grüne Pinselschimmel. Seine Entwicklungszustände sind in Figur 111 nach Brefeld wiedergegeben. Er bildet heller oder dunkler grüne, im Alter sich verfärbende Pilzrasen, die ein faseriges Gefüge sofort erkennen lassen. Die Verzweigung der Konidienträger ist sehr variabel. Die Tragzellen der im Maxium die Zahl 12 erreichenden Sterigmen sind immer merklich kürzer als letztere. *a* und a^1 der Figur 111 zeigen uns die verzweigten Konidienträger mit den Tragzellen und Sterigmen, von denen die kugeligen und glatten, ca. 2,5 μ dicken Konidien in Ketten abgeschnürt werden. Ab und zu kommt es im Myzel zur Ausbildung etwa sandkorngroßer, harter Sklerotien, in denen nach einer Ruhepause das zentrale Gewebe im Innern eingeschmolzen und Asci gebildet werden. Unter Sklerotien versteht man im allgemeinen harte, knollige Gebilde, die aus dichtgedrängten Zellen bestehen, die ein paraplectenchymatisches Gewebe formieren. Dazu sei bemerkt, daß man unter Plektenchym überhaupt aus fädigen Elementen aufgebaute Gewebe versteht. Beim Paraplektenchym sind die es zusammensetzenden Hyphen dicht gefügt und reichlich septiert. *b* unserer Figur 111 zeigt ein in Askusbildung begriffenes Sklerotium. Die Asci sind hier kugelig bis elliptisch und zerfallen nach Ausbildung der gelblichen ellipsoidischen Sporen. In *c* der Figur 111 sehen wir freigemachte, in Sporenbildung begriffene Asci, während *d* die Sporen selbst in Seitenansicht wiedergibt. An ihnen sieht man eine Längsfurche und 3—4 darauf quer verlaufende Leisten.

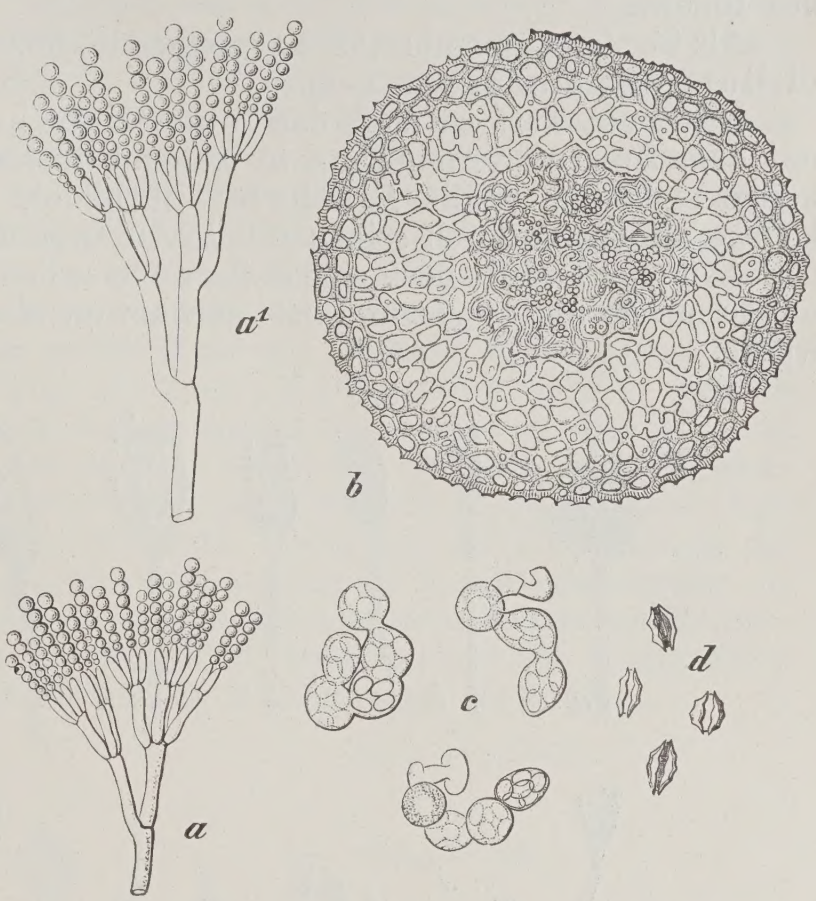


Fig. 111.

Der grüne Pinselschimmel ist überall leicht zu finden. In der Luft, im Boden, an Getreide usw. sind seine Konidien, die selbst bei sehr wenig Nahrung zur Bildung ausgebreiteter Schimmelvegetationen Veranlassung geben. Allbekannt ist ja der durch diesen Pilz hervorgerufene schimmelige Geschmack und Geruch.

Auch der Pinselschimmel bevorzugt niedere Temperaturen um 20° C. Er ist im allgemeinen ein Säurezehrer, was ganz besonders für

Apfelsäure, Weinsäure und Zitronensäure gilt. Mitunter findet allerdings nur eine Neutralisation derselben durch das von ihm gebildete Ammoniak statt. Er produziert unter zahlreichen anderen Enzymen auch reichlich proteolytische Enzyme und vermag dementsprechend Peptone und Eiweißkörper tief zu spalten, wobei viel Ammoniak entsteht.

Besondere Penicilliumarten finden daher auch in der Käserei zur Reifung bestimmter Käsesorten unmittelbar Verwendung. So besorgt das Penicillium Roquefort, das bläulich-grüne Konidien ausbildet, im Roquefortkäse einen Abbau von Kasein unter Bildung ganz bestimmt schmeckender Verbindungen und gibt die grüne Marmorierung des Innern.

Als für den Camembertkäse typischer Reifungspilz ist hier das Penicillium Camembert zu nennen.

Erwähnenswert ist auch das Pencillium brevicaule Saccardo, mit dem Spuren von Arsen in Nährsubstraten nachgewiesen werden können, da dieser Pilz Diäthylarsin bildet, das sich noch in den kleinsten Mengen durch seinen intensiven Geruch verrät.

Außerdem wurde noch eine Reihe anderer Penicilliumarten mehr oder minder genau untersucht und bekannt, auf die einzugehen zu weit führen würde.

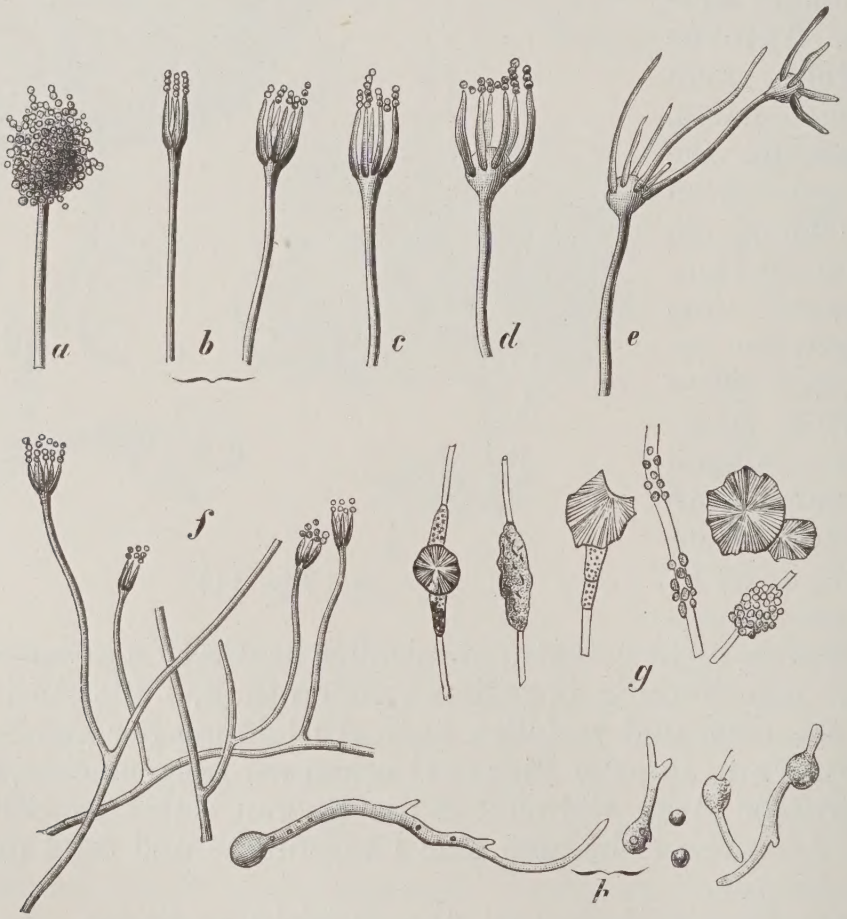


Fig. 112.

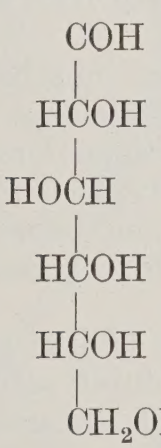
Die Gattung **Cytromyces** Wehmer umfaßt nur wenige Formen, die sich sowohl von Penicillium als auch von Aspergillus gut unterscheiden. Allen kommt ein großes Säuerungsvermögen zu. Der meist nicht septierte, nicht verzweigte, schlanke Konidienträger trägt eine keulen-

artige Blase, an der die nach oben zusammenstrebenden Sterigmen wirtel- oder büschelartig sitzen, wie es in Figur 112 bei *b—d* und *f* gut zu sehen ist. Die Abbildung ist von Wehmer und stellt Entwicklungsstadien des Citromyces Pfefferianus Wehmer dar. An den Spitzen der Sterigmen werden die kugeligen grünen Konidien in Ketten abgeschnürt.

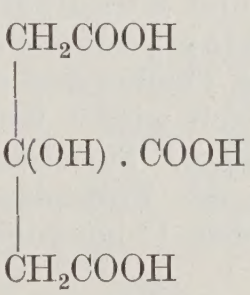
Man findet den Cytromyces Pfefferianus auf alten Schwämmen im Freien und dann auf Zitronensaft, sauren Konservenfrüchten und auch auf frischen sauren Früchten und Zuckerlösungen. wo er grüne, im Alter sich mehr bräunlich verfärbende Überzüge erzeugt. In *a* der Figur 112 sehen wir die mit Konidien strotzend bedeckten Konidienträger, während uns *g* Hyphenteile vor Augen führt, die sich in kalkhaltiger Nährflüssigkeit gebildet haben und von körnig abgelagerten Kalziumzitrat überstreut oder mit daraus entstandenen Sphäriten bedeckt sind. Vollständige Einhüllungen kommen ebenfalls vor. *h* gibt uns die Konidienkeimung und reife Konidien wieder.

Von Interesse ist die durch Citromycesarten hervorgerufene **Zitronsäuregärung**, worunter wir die Bildung und Abscheidung freier Zitronensäure aus Zucker zu verstehen haben. Man erhält bis zur Hälfte des verwendeten Zuckers Zitronensäure, wenn man durch Festlegung derselben als Kalksalz sie vor weiterem Abbau schützt. Es handelt sich bei der Zitronensäuregärung um einen Oxydationsvorgang, weshalb der Prozeß auch nur unter freiem Zutritt der Luft vor sich geht und nur unter diesen Umständen der Cytromyces überhaupt zur Entwicklung gelangt. Die Zitronensäuregärung greift am Dextrosemolekül an. Aber nicht eine glatte Oxydation findet bei der Überführung der Dextrose in Zitronensäure statt, sondern es kommt gleichzeitig zur Sprengung der Kohlenstoffkette des Zuckermoleküles, worauf ein Kohlenstoffatom in seitliche Verbindung rückt, entsprechend der Konstitution der Zitronensäure, wie aus folgender Anschreibung hervorgeht:

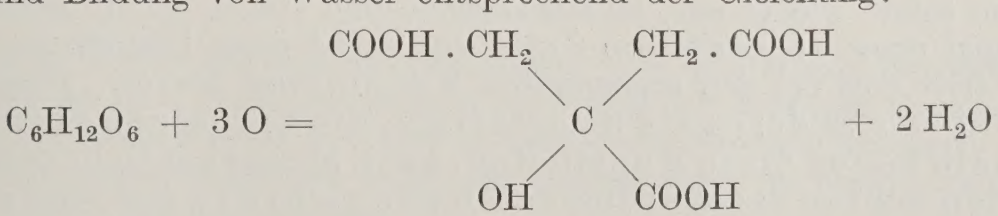
Dextrose:



Zitronensäure:



Die oxydative Zerlegung erfolgt unter Aufnahme von freiem Sauerstoff und Bildung von Wasser entsprechend der Gleichung:



Die Zitronensäuregärung hat eine Bedeutung für die Gewinnung der Säure im Fabriksbetrieb und wird tatsächlich auch technisch verwertet. Die Ausbeute ist wie die Reinheit des Produktes eine gute und rentable, wenn auch das Verfahren nicht gerade einfach ist. Außerdem ist die Infektionsgefahr nicht zu unterschätzen, die den Betrieb ständig bedroht. Mit einer Variabilität des Gärungsvermögens der Erreger muß natürlich ebenfalls gerechnet werden.

Es sind schon einige Citromycesarten für diese Gärung bekannt geworden, von denen noch der Citromyces glaber hervorgehoben sei.

Von den Zygomyceten kommt für die Gärungsbetriebe nur die Familie der **Mucoraceen** in Frage, die zu den Mucorineen gehören. Alle Vertreter der Mucorineen bilden ein einfaches Sporangium auf einer Columella, welche Einrichtung wir früher bereits kennen gelernt haben. Außerdem kommt es mehr oder minder häufig zur Ausbildung von Zygosporen.

Die **Gattung Mucor** besitzt einen einfachen oder verzweigten Sporenträger mit einem Endsporangium, eine nicht aufsitzende Columella. Die Sporangienwand ist sehr brüchig und zerfließlich, was sich besonders bei jungen Sporangien bemerkbar macht. Das Sporangium ist kugelförmig, besitzt eine mehr oder weniger durchsichtige Wand von heller Farbe und ist aufrecht gestellt. Die Sporangienwand zeigt schöne Nadeln, die oxalsaurer Kalk sein sollen. Der Träger besitzt stets eine weißgraue Farbe und ist niemals gegabelt oder wirtelförmig verzweigt. Im Sporangium finden sich sehr zahlreiche Sporen von abgerundeter Gestalt. Ihre Oberfläche ist meist glatt, höchstens mit feinen Stacheln versehen. Das Myzel besitzt in der Regel farblose Wände, während im Plasma häufig gelbe bis gelbrote in Fetttropfen gelöste Pigmente zu beobachten sind.

Die Zygosporen und ihre Bildung haben wir schon kennen gelernt.

Außer den genannten Vermehrungszellen treten bei zahlreichen Arten der Gattung Mucor noch zellige Bildungen auf, die man als Chlamydosporen und Kugelzellen bezeichnet.

Die Chlamydosporen (Gemmen) entstehen innerhalb des Pilzkörpers oder Thallus und sind mit derber Wand bekleidete Ruheformen, aus denen sich wieder neue Myzelien unter günstigen Umständen entwickeln können. Sie bilden sich innerhalb von Hyphen, indem sich an einer Stelle der Protoplast zusammenzieht und neu behäutet. Ganze Ketten solcher Chlamydosporen findet man in der sonst fast leeren Hyphe.

Die Kugelzellen, auch Reihengemmen oder Oidien genannt, werden in der Weise gebildet, daß Hyphenabschnitte durch zahlreiche Querwände in kleine Abschnitte geteilt werden, die sich abrunden und dann allseits vergrößern. Sie verbleiben längere oder kürzere Zeit hindurch im Verband. Die als abnormale Bildungen aufzufassenden Kugelzellen keimen sofort wieder aus, bilden Hyphen und tragen schon deshalb das Merkmal einer vegetativen Zelle und nicht einer Dauerform. Noch mehr tritt dies bei den sogenannten Kugelhefen hervor. Dieselben sind nichts anderes als Kugelzellen, die Sprossung aufweisen. Deshalb haben diese Kugelhefen, auch Mucorhefen bezeichnet, mit den echten Saccharomyceten gar nichts zu tun und stehen

auch in keinem Zusammenhang mit einer etwa auftretenden alkoholischen Gärung.

Mucor mucedo

ist eine weitverbreitete und besonders auf Pferdemist und anderen vegetabilischen und tierischen Substanzen sich ansiedelnde Kopfschimmelart. Er bildet ausgebreitete Schimmelvegetationen von grauweißer Farbe. Eine technische Bedeutung kommt ihm allerdings nicht zu, doch siedelt

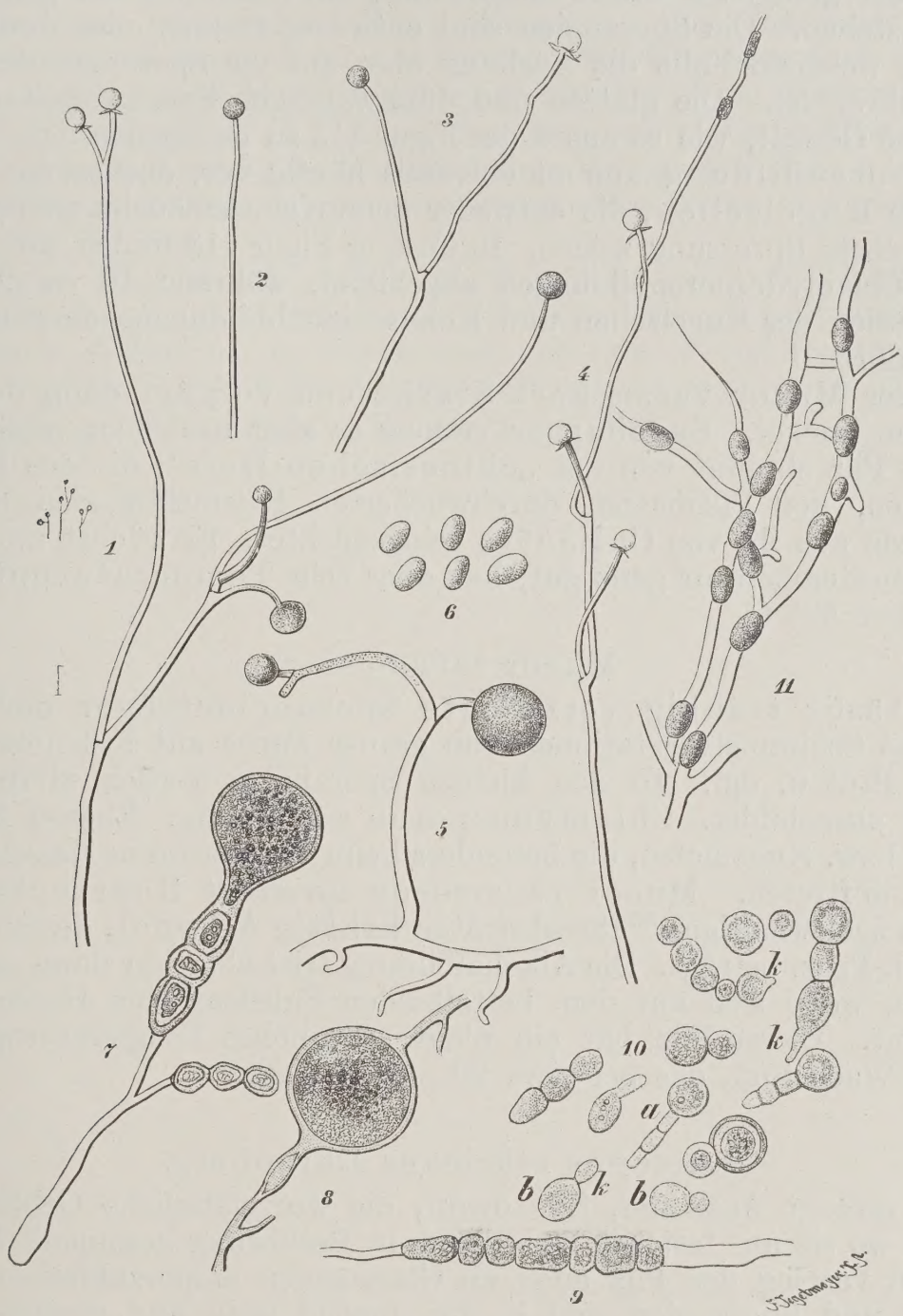


Fig. 113.

er sich in Molkereibetrieben, Gerbereien und in anderen Betrieben mit Vorliebe an und greift mitunter störend ein. Als kräftiger Eiweißspalter und auch Fettzersetzer verdirbt er häufig die Molkereiprodukte.

Sein Gärvermögen ist wohl sehr gering, denn im besten Falle wird etwa 1proz. Alkohol gebildet.

Von den vielen anderen bekannt gewordenen Mucorarten sei hier noch erwähnt der

Mucor Rouxianus Wehmer.

Derselbe wird auch Mucor Rouxii genannt. Er besitzt niedere, oft sympodial verzweigte Sporangienträger, welche wir in 1—5 der Figur 113 nach Wehmer, Vuillement und Calmette abgebildet sehen. Sie sind sehr zart. Oft werden nur feine, sterile Decken von orangegelber oder goldgelber Farbe ausgebildet, die besonders auf gekochtem Reis entstehen. Die Sporangien sind entweder farblos oder dunkel gefärbt, in welchem Falle die Färbung aber auf die Sporenmembran zurückzuführen ist. Die glatten und dünnwandigen Sporen besitzen eine elliptische Gestalt, wie es aus 6 der Figur 113 zu entnehmen ist. Chlamydosporenbildung kommt ebenfalls häufig vor, ebenso die Erzeugung von Kugelzellen, die entweder neue Keimschläuche treiben oder als Kugelhefe Sprossung zeigen. In unserer Figur 113 finden wir in 7—9 und 11 Chlamydosporenbildungen abgebildet, während 10 verschiedene Sproßstadien der Kugelzellen und Keimschlauchbildungen derselben vor Augen führt.

Dieser Mucor verzuckert Stärke und vergärt dann den entstandenen Zucker. Saccharose vermag er aber nicht zu vergären.

Der Pilz stammt von der „chinesischen Hefe", die aus kleinen, rundlichen, von Pilzmassen durchwucherten Reismehlmassen besteht, und wurde aus ihr von Calmette reingezüchtet. Er wächst zwar auch bei Zimmertemperatur ganz gut, hat aber sein Temperaturoptimum etwas über 30° C.

Mucor racemosus

besitzt häufig traubig verzweigte Sporangienträger und bildet sehr hohe Schimmelvegetationen von grauer Farbe auf Früchten, Malz, Würze, Brot u. dgl. In den kleinen Sporangien werden elliptische Sporen ausgebildet. Chlamydosporen sind häufig. Ebenso Kugelzellen, bzw. Kugelhefen, die besonders beim Wachstum in Maischen und Würzen auftreten. Mucor racemosus invertiert Rohrzucker und bildet in zuckerhaltigen Nährsubstraten kräftig Alkohol, dessen Menge 2—7 Vol.-Proz. beträgt. Die Alkoholbildung tritt aber nur dann nennenswert ein, wenn sich auf dem betreffenden Substrat eine Decke ausgebildet hat. Dieser Pilz hat ein nicht sehr hohes Temperaturoptimum für das Wachstum, das bei etwa 20—25° C liegt.

Rhizopus nigricans Ehrenberg.

Er erzeugt Ausläufer, Stolonen, die wurzelähnliche Gebilde dort treiben, wo sie mit festeren Unterlagen in Berührung kommen. Mit den Stolonen vermag der Pilz auch an Glaswänden emporzuklettern. Die Hyphen und Sporangien sind in der Jugend weiß und verfärben sich später dunkel. Die hohen, steifen Sporangienträger sind entweder unverzweigt oder verzweigt. Die Sporen sind unregelmäßig geformt und besitzen eine dunkelgraue Farbe. Das Exospor derselben weist feine Faltenbildungen auf. Chlamydosporen- und Kugelzellenbildung konnte bisher nicht beobachtet werden. Wohl aber tritt ab und zu Zygosporenbildung auf. Rhizopus nigricans erzeugt zahlreiche

Enzyme, mit denen er Eiweißkörper und Kohlehydrate anzugreifen vermag. Sein Gärvermögen ist nicht groß, denn er erzeugt höchstens 1 Vol.-Proz. Alkohol. Neben den Enzymen bildet er noch ein hitzebeständiges Gift, mit dessen Hilfe er Fruchtzellen zu vernichten vermag und so sein Eindringen erleichtert. Man findet ihn oft in und auf reifen Früchten und Beeren, so daß er mitunter sehr schädlich werden kann. Er besiedelt außerdem mit Vorliebe Reis, Malz, Mehl und Brot.

Zum Schlusse sei noch der **Rhizopus japonicus** kurz beschrieben, der aus dem japanischen Koji stammt. Die hohen Pilzrasen besitzen eine braunschwarze Farbe, die Hyphen sind oft durch keulenartige und blasige Anschwellungen und Auftreibungen vielfach verunstaltet. Chlamydosporen werden beobachtet, während eine Kugelzellenbildung zu fehlen scheint. In den auf etwa 1 mm hohen Trägern ausgebildeten Sporangien entstehen die großen und oberflächlich gefältelten Sporen.

Dieser Pilz ist sehr reich an Amylase und wird deshalb auch technisch im „Amyloverfahren" verwertet. Er vergärt außer Rohrzucker noch Melibiose, Raffinose und Inulin und erzeugt im Maximum ungefähr 5 Vol.-Proz. Alkohol. Rhizopus japonicus hat ein sehr hohes Temperaturoptimum, das um 37° C liegt.

IV. Abschnitt.

Bakterielle Umsetzungen.

A. Fäulnis und Verwesung.

Die Kenntnis der Vorgänge bei der Fäulnis und Verwesung ist für den technischen Mykologen insofern von größerer Bedeutung, als solche Prozesse einerseits sehr wesentlich in den Umsatz des Stickstoffes in der Natur eingreifen und andererseits bei zahlreichen Industrien sich einstellen. Es sei nur an die Gerberei, Molkerei, Käserei und Konservenindustrie erinnert.

Fäulnis und Verwesung setzen äußerlich dort ein, wo Tier- und Pflanzenreste, kurz „organisierte Stoffe" unter mehr oder minder großem Luftzutritt und genügender Feuchtigkeit dem mikrobiellen Abbau unterliegen. Dabei hat man in erster Linie die Aufspaltung der Eiweißkörper im Auge und spricht von einer echten Fäulnis dann, wenn die Zersetzung unter geringer Sauerstoffspannung, also anaërob geschieht. Dabei geht der Abbau der Eiweißkörper und Eiweißbruchstücke aber nicht sehr tief und nur verhältnismäßig langsam. Die Verwesung erfolgt bei Sauerstoffzutritt und ist somit ein aërober Prozeß. Dabei kommt es zu stürmischen und sehr tief gehenden Zerlegungen der Proteine. In der Natur wird man beide Vorgänge nur schwer streng trennen können.

Die Fäulnis wird dementsprechend vornehmlich durch anaërobe Bakterien durchgeführt, also Mikroorganismen, welche nur unter gänzlichem Ausschluß des Luftsauerstoffes oder nur bei sehr vermindertem Druck desselben zu leben vermögen. Deren gibt es eine große Reihe. Die echte Fäulnis ist nun dadurch gekennzeichnet, daß der Abbau relativ langsam erfolgt und daß eine ansehnliche Menge von Zwischenprodukten der zerfallenden Proteine jederzeit nachweisbar ist. Die in der freien Natur einsetzende echte Fäulnis ist durch das Auftreten sehr stinkender Zwischenprodukte ausgezeichnet.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der mit Reinkultur erregten Fäulnis im Laboratorium. Wir finden, daß die meisten anaëroben Bakterien die Eiweißstoffe ohne Bildung von Indol, Skatol und Phenol abbauen. Es gibt aber auch Ausnahmen, wie den Bacillus saprogenes carnis, der diese Zersetzungsprodukte des Tryptophans und Tyrosins liefert. In allen Fällen handelt es sich um eine Reihe von hintereinander oder nebeneinander verlaufenden Enzymwirkungen. Allgemein werden die Proteasen bei der Eiweißfäulnis die Hauptrolle spielen. Der Abbau wird dabei im großen und ganzen dem auf Seite 92 und 93 gegebenen Schema folgen. Bei der durch Reinkulturen erzeugten Fäulnis hängen die entstehenden Produkte auch von der Art des verwendeten Ausgangsmaterials ab.

So hat sich für einen typischen Vertreter anaërober Fäulnisbakterien, den Bacillus putrificus Bienstock für die Fäulnis des Fibrins das Resultat ergeben, daß nach etwa vierzehn Tagen eine komplette Verflüssigung desselben unter Bildung von sehr stinkenden flüchtigen Produkten und Gasen eingetreten ist. In der faulenden Masse konnte eine Reihe von Eiweißabbauprodukten nachgewiesen werden.

Das Ausgangsmaterial Fibrin ist bekanntlich nichts anderes als das aus dem Sol- in den Gel-Zustand übergegangene Fibrinogen. Das Fibrin ist in Wasser unlöslich und wird leicht von Proteasen gespalten. Die Totalhydrolyse durch Säure gibt nach Abderhalden und Voitinovici und Brunner folgende Produkte: Glykokoll, Alanin, Valin, Leucin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Serin, Cystin, Arginin, Phenylalanin, Tyrosin, Prolin, Histidin und Spuren von Ammoniak. Der fermentative Abbau durch den Bacillus putrificus führt zwar sehr tief, doch sind immer noch komplexe Eiweißbruchstücke vorhanden. Die faulende Masse enthält Albumosen, Peptone und Aminosäuren, wie Leucin, Tyrosin. Als tiefere Abbauprodukte finden sich Skatolcarbonsäure, Stickstoffbasen und endlich Fettsäuren. Weiter wird dabei auch Ammoniak und Schwefelwasserstoff gebildet.

Ohne hier auf Einzelheiten näher einzugehen, kann für die anaërobe Fäulnis allgemein gesagt werden, daß es sich dabei in erster Linie um Hydrolysen und in zweiter Linie auch um Reduktionen und Desamidierungen handelt. Oxydative Spaltungen treten vollkommen in den Hintergrund, da ja freier Luftsauerstoff dabei fehlt.

Der weit verbreitete Bacillus proteus ist eine typische Fäulnisbakterienart, die sowohl bei gewöhnlichem als auch bei stark vermindertem Sauerstoffdruck wächst. Diese Bakterien greifen in erster Linie Proteine an, die tief abgebaut werden. Dabei setzt der Abbau an den Bruchstücken mit Hilfe einer Reihe von Enzymen ein, so daß mehrere Richtungen der Zerlegung erfolgen. Man wird wohl nicht fehlgehen, auch reversible Enzymbeschleunigungen anzunehmen, wodurch Synthesen Zwischenprodukte schaffen, die erst der endgültigen Spaltung und Oxydation unterliegen. Hier liegt auch nicht mehr eine echte Fäulnis im reinsten Sinne des Wortes vor, sondern eine Art Verwesung, da die Umsetzungen bei Gegenwart von freiem Sauerstoff erfolgen.

Im allgemeinen werden bei der aëroben Fäulnis oder Verwesung von Eiweißstoffen außer den Hydrolasen, bzw. Proteasen auch noch oxydierende Enzyme als Beschleuniger auftreten. Dieses In- und Durcheinandergreifen von Reaktionen erschwert einen Überblick über die Vorgänge bei der Fäulnis außerordentlich und macht es unmöglich, eine Art Schema dieser Vorgänge auch nur annähernd aufzustellen. Es kann daher im folgenden nur versucht werden, die allgemeinen Richtungen des enzymatischen Abbaues von Proteinen und Proteiden an der Hand einzelner Beispiele festzulegen. Es entstehen zuerst intermediär immer Albumosen und Peptone und dann Aminosäuren.

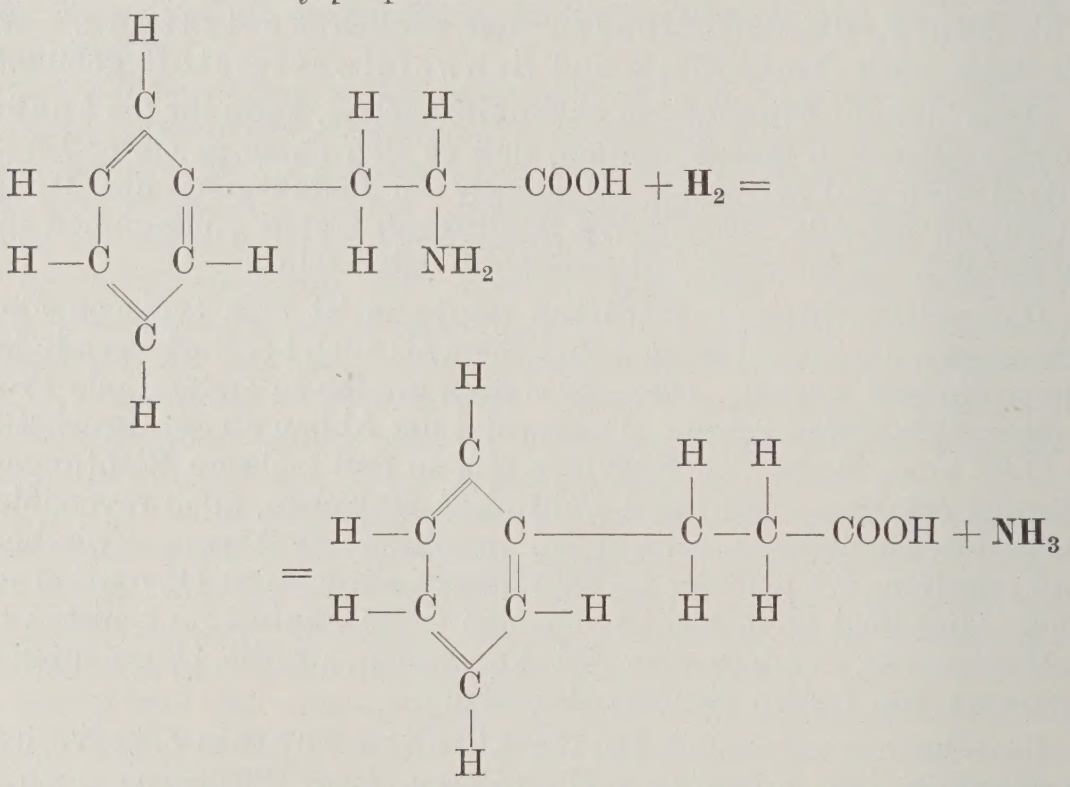
Solche, durch enzymatische Spaltung primär aus dem Eiweißmolekül entstehende Aminosäuren sind z. B. Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin, Arginin, Cystin, Phenylalanin, Tyrosin, Prolin, Tryptophan, Histidin usw. Die für die Fäulnis typischen einfachen Verbindungen werden

erst aus den Aminosäuren sekundär erzeugt, wobei wieder eine Reihe von besonderen Enzymen im Spiel ist.

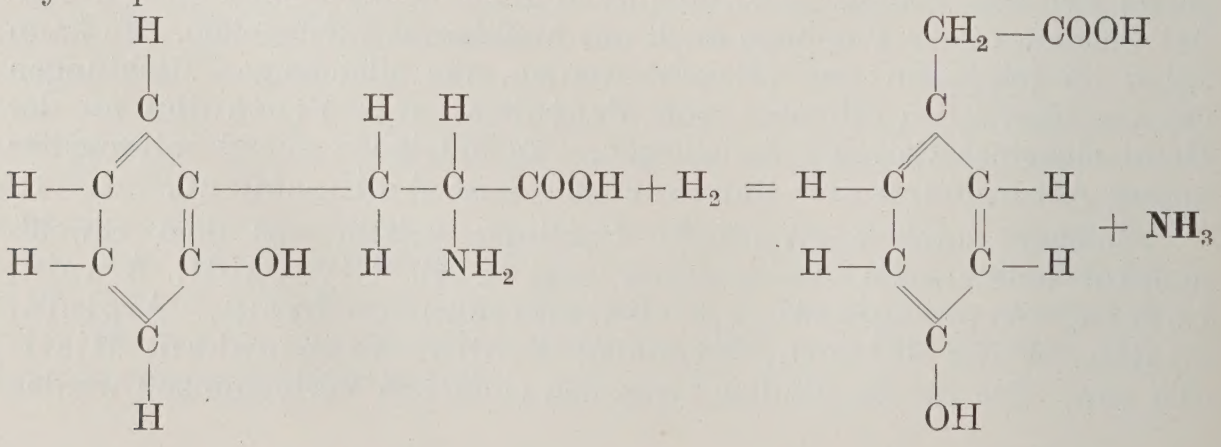
Der sekundäre Abbau kann nun nach vier Richtungen erfolgen. Es kann vor allem eine Desaminierung eintreten, wobei Ammoniak abgespalten wird, oder es kommt zu einer Hydrolyse oder Reduktion komplexer Aminosäuren. Die zweite Richtung des Abbaues ist dadurch gekennzeichnet, daß aus Carboxylgruppen Kohlendioxyd abgetrennt wird, wobei kohlenstoffärmere Säuren entstehen. Die dritte Richtung des Abbaues ist durch Oxydationsvorgänge charakterisiert, wodurch sauerstoffreichere Verbindungen entstehen. Eine vierte Richtung ist schließlich dadurch gegeben, daß frei werdender naszierender Wasserstoff weitgehende Reduktionsprozesse auslöst.

In die erste Gruppe von Reaktionen fällt der Fäulnisabbau zahlreicher aromatischer Aminosäuren wie Phenylalanin und Tyrosin.

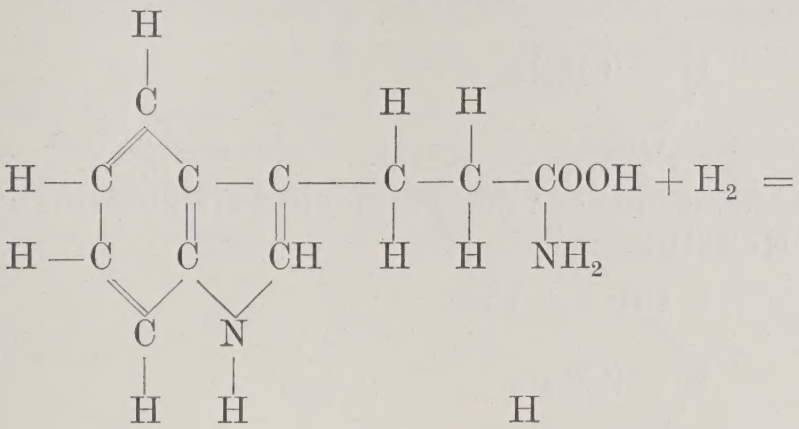
Die Phenyl-*a*-aminopropionsäure (Phenylalanin) geht durch Reduktion in die Phenylpropionsäure über:

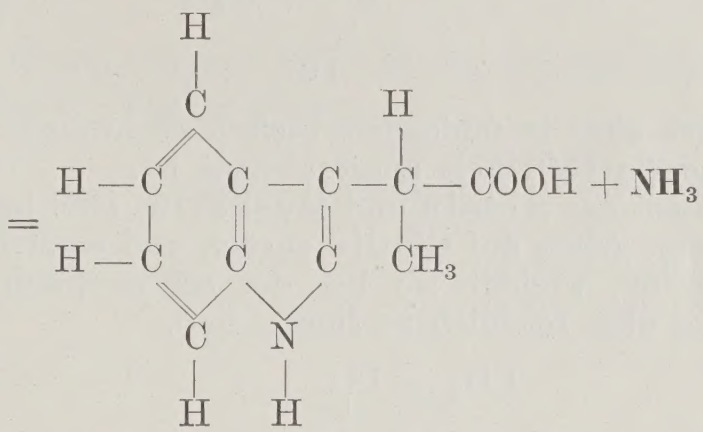


Ebenso findet die Desaminierung der Paraoxyphenyl-*a*-aminopropionsäure (Tyrosin) unter Aufnahme von Wasserstoff statt, wobei Hydroparacumarsäure neben Ammoniak entsteht:

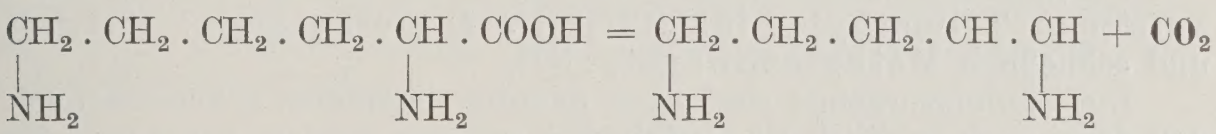


Dieselbe Erscheinung des Abbaues durch Reduktion bei der Fäulnis zeigen auch Aminosäuren der heterozyklischen Reihe, wofür als ein Beispiel der Zerfall der l-Indyl-*a*-aminopropionsäure (Tryptophan) unter Bildung von Skatolessigsäure und Ammoniak aufgeführt sei.

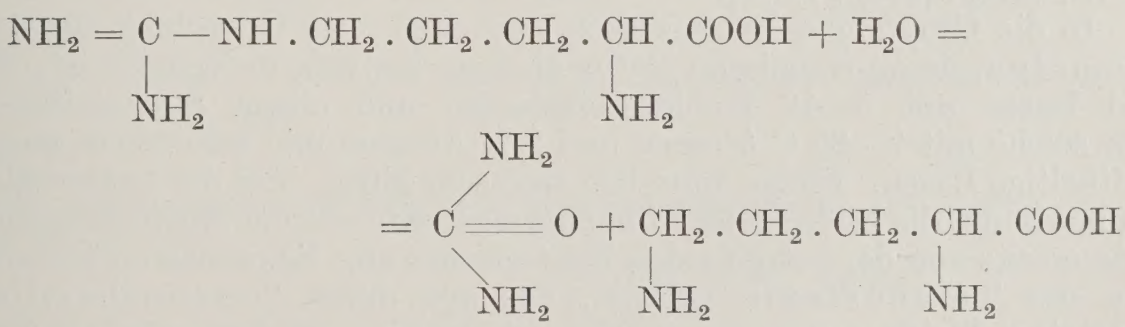




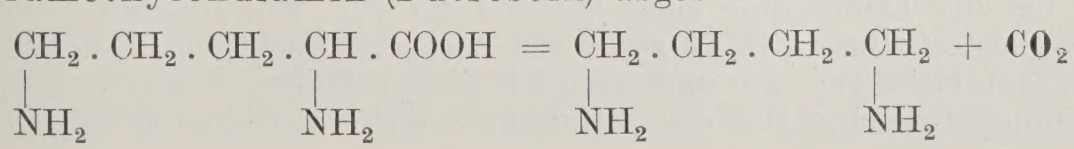
Ein Beispiel der Zerlegung einer Diaminomonocarbonsäure unter Kohlensäureabspaltung bei der Fäulnis gibt die Bildung von Pentamethylendiamin (Cadaverin) und der α-ε-Diaminocapronsäure (Lysin):



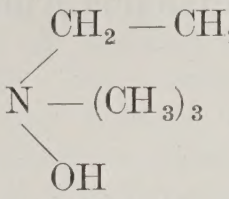
Die Guanidin-α-Aminovaleriansäure (Arginin) unterliegt bei der Fäulnis zuerst einer hydrolytischen Spaltung in Ornithin (α-δ-Diaminovaleriansäure) und Harnstoff entsprechend der Gleichung:



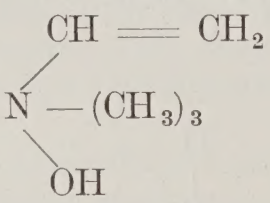
Das Ornithin wird dann durch Abspaltung von Kohlendioxyd in das Tetramethylendiamin (Putrescin) abgebaut:



Bei der Fäulnis der Phosphatide, insonderheit des Lecithins, entsteht vornehmlich Cholin (Trimethyloxäthylammoniumhydroxyd), eine Stickstoffbase von der Zusammensetzung:

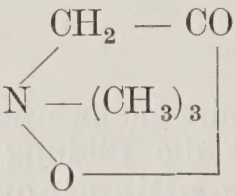


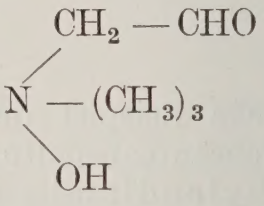
Es ist auch die Muttersubstanz des Trimethylvinylammoniumhydroxydes, des Neurin:



das sich stets in faulendem Fleisch nachweisen läßt und überdies durch eine große Giftigkeit ausgezeichnet ist.

Auch das Betain und Muskarin, zwei häufig vorkommende Fäulnisbasen, gehen auf Cholin zurück und entstehen aus demselben durch Oxydation, weshalb sie bei der echten Fäulnis fehlen, bei der Verwesung aber reichlich zu finden sind.

Betain: 

Muscarin: 

Die genannten Stickstoffbasen liefern bei der Fäulnis durch Weiterzersetzung Trimethylamin: $(CH_3)_3N$, Dimethylamin: $(CH_3)_2NH$ und schließlich Methylamin: $CH_3 . NH_2$.

Die Fäulnisvorgänge sind noch dadurch besonders gekennzeichnet, daß dabei auch reichlich Fäulnisbasen gebildet werden, von denen das Putrescin als Abkömmling des Ornithins bereits oben genannt worden ist. Hierher gehört auch das Pentamethylendiamin oder Cadaverin: $NH_2 . (CH_2)_5 . NH_2$.

In die Gruppe der Fäulnisbasen sind auch noch zu rechnen die sog. Ptomaine, deren chemische Natur aber noch wenig untersucht ist. Es sind Basen mit 5—10 Kohlenstoffatomen und einem Stickstoffatom oder solche mit 2—25 C-Atomen und 2 N-Atomen und schließlich sauerstoffhaltige Basen. Einige derselben sind sehr giftig. Bei der bakteriellen Fäulnis hängt die Bildung der Ptomaine einerseits von der Muttersubstanz, andererseits von der betreffenden Bakterienart ab. Bekanntere Ptomaine sind das Tetanustoxin $C_5H_{11}N$, das aus durch Tetanusbazillen zersetztem Fleich gewonnen worden ist, weiters ein Isomeres der Verbindung $C_8H_{11}N$, das bei der Streptokokkenfäulnis von Fibrin und bei der Leimfäulnis gefunden worden ist. Ein Ptomain von der Zusammensetzung $C_{10}H_{17}N$ stellt sich bei der Zucht von Bacterium allii auf Nähragar ein und verleiht diesen Kulturen einen sehr angenehmen Geruch. Bei der Leimfäulnis stellt sich häufig Marcitin,

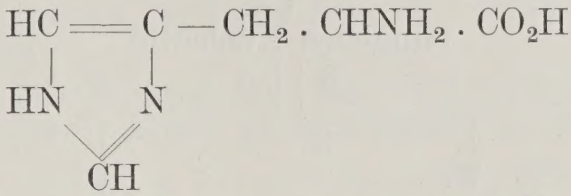
$C_8H_{13}N_3$ ein. Sauerstoffhaltige Ptomaine sind das aus gefaultem Pferdefleisch hergestellte Mydin $C_8H_{11}NO$ und das Mydotoxin $C_6H_{13}NO_2$.

Ebenfalls aus gefaultem Leim stammt das Gadinin, $C_7H_{17}NO_2$, und das Putridin. Aus Käse wurde die Base $C_{16}H_{23}N_2O_4$ isoliert. Auch ein proteinogenes Amin, das Phenyläthylamin,

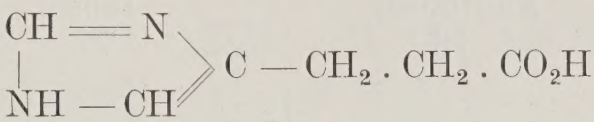
$$C_6H_5 . CH_2 . CH_2 . NH_2$$

findet man im faulen Leim.

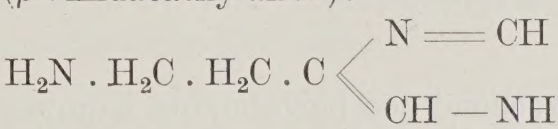
Von den Imidazolen sei als Fäulnisprodukt das Histidin (l-β-Imidazol-α-Aminopropionsäure)



angeführt, weil es auch die Muttersubstanz bildet für die bei der Fäulnis ebenfalls festgestellte Imidazolpropionsäure:

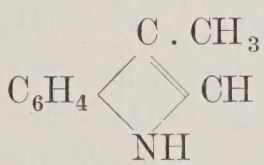


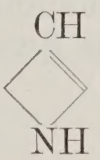
und das Histamin (β-Imidacäthylamin):



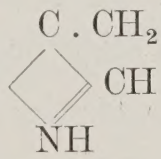
Diese mikrobielle Zersetzung des Histidins wird geradezu technisch zur Gewinnung des Histamins verwendet.

Wir haben schon früher gesehen, daß das Tryptophan bei seiner Reduktion Skatolessigsäure und Ammoniak liefert. Aus ihm entsteht bei der Zersetzung durch Bacillus proteus und Oidium lactis l-Indol-pr-3-α-Milchsäure. Das bei jeder Eiweißfäulnis auftretende Skatol (β-Methylindol):



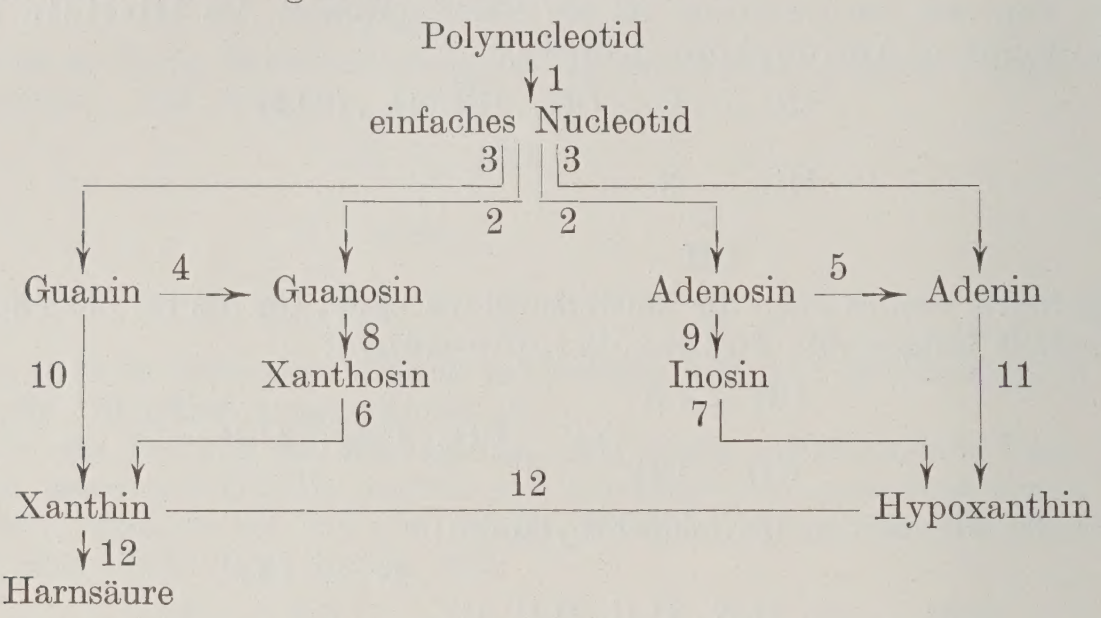
und Indol  ist aus dem Tryptophan enzymatisch gebildet.

Bei der anaëroben Fäulnis entsteht dagegen aus dem Tryptophan die

β-Indylpropionsäure: 

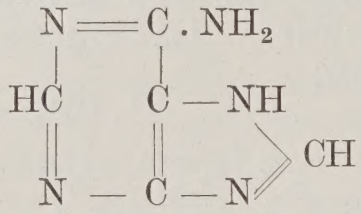
Die bisher skizzierten Vorgänge beziehen sich in erster Linie auf den durch die Fäulnis hervorgerufenen Abbau der Proteine. Der Fäulnis unterliegen aber auch die Proteide, also zusammengesetzte

Eiweißkörper, wie zum Beispiel die Nucleoproteide und Phosphoproteide. In diesen Fällen treten wieder für die Ausgangsprodukte typische Spaltstücke auf. Zuerst tritt eine Hydrolyse ein, durch die eine Trennung der Nucleinsäure aus dem zusammengesetzten Nucleoproteid erfolgt. Erst das einfache Nucleotid wird dann weiter enzymatisch zerlegt. Dafür ist nun aber eine Reihe von verschiedenen unabhängig wirksamen Enzymen erkannt worden. Mit Fodor kann man sich den Abbau etwa nach folgendem Schema vorstellen:

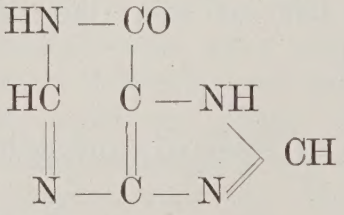


Es sind entsprechend den beigesetzten Nummern an Enzymen tätig: 1. Nuklease, 2. und 3. Nucleotidasen, 4.—7. Nucleosidasen, 8. Guanosinamidase, 9. Adenosinamidase, 10. und 11. Purinamidasen und 12. Xanthinoxydase.

Für die Fäulnis der Nucleotide ist das Auftreten von Pyrimidinen und Purinen geradezu typisch. So bildet das Adenin (6-Aminopurin):

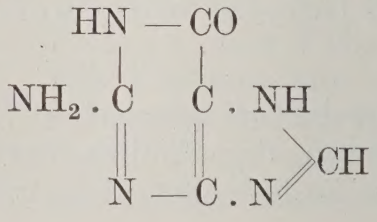


das Ausgangsprodukt für das jederzeit bei der Fäulnis von Nukleinen nachweisbare Hypoxanthin, 6-Oxypurin oder Sarkin:

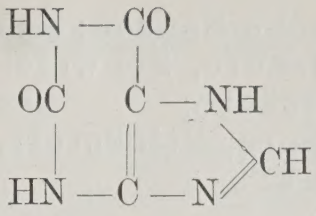


Von weiteren Purinen seien noch als Spaltungsprodukte aufgeführt:

Das Guanin, 2-Amino-6-Oxypurin



und das Xanthin, 2-6-Dioxypurin



Damit ist die Reihe der Spaltprodukte bei der Fäulnis aber keineswegs erschöpft, da bei den genannten Verbindungen der Abbauprozeß nicht halt macht. Besonders Oxydationen verbrennen die Spaltungsprodukte der Aminosäuren weiter, wobei Zwischenprozesse wieder nach verschiedenen Richtungen verlaufen können. Dabei wird Kohlendioxyd und Wasser gebildet.

So entsteht zum Beispiel aus der Phenylpropionsäure durch Oxydation Phenylessigsäure entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_5 . CH_2 . CH_2 . COOH + 3\,O = C_6H_5 . CH_2 . COOH + \mathbf{CO_2} + \mathbf{H_2O}$$

Die weitere Oxydation der Phenylessigsäure liefert entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_5 . CH_2 . COOH + 3\,O = C_6H_4 . OH . CH_2 . COOH + \mathbf{CO_2} + \mathbf{H_2O}$$

Benzoesäure, Kohlendioxyd und Wasser.

Beim Fäulnisprozeß findet sich als Zersetzungsprodukt Phenol, das sich durch Oxydationen und Kohlendioxydabspaltung von der Hydroparacumarsäure abspalten läßt.

Hydroparacumarsäure:

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_2 . CH_2 . COOH\end{cases} + 3\,O = C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_2 . COOH\end{cases} + \mathbf{CO_2} + \mathbf{H_2O}$$

p-Oxyphenolessigsäure:

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_2 . COOH\end{cases} = C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_3\end{cases} + \mathbf{CO_2}$$

p-Kresol:

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_3\end{cases} + 3\,O = C_6H_4\begin{cases}OH\\COOH\end{cases} + \mathbf{H_2O}$$

p-Oxybenzoesäure:

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\COOH\end{cases} = C_6H_5 . OH + \mathbf{CO_2}$$

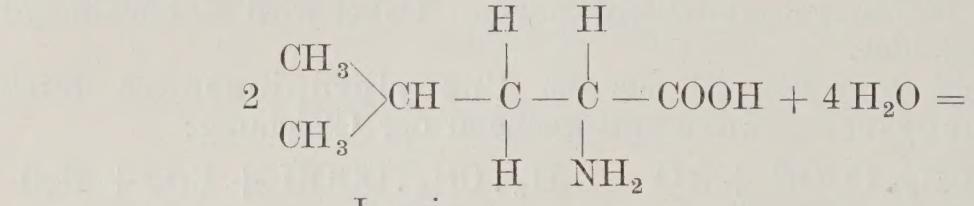
Phenol.

In der freien Natur haben wir immer eine gemischte Fäulnis vor uns, die durch eine Reihe von nebeneinander und hintereinander tätigen Mikroben ausgelöst wird. Außerdem kann zur echten Fäulnis noch die Verwesung hinzutreten, wenn die Luft mehr oder minder großen Zutritt besitzt. Die Zersetzung der Eiweißkörper ist dabei eine sehr tiefgehende, und wir finden immer die meisten der oben genannten Fäulnisprodukte.

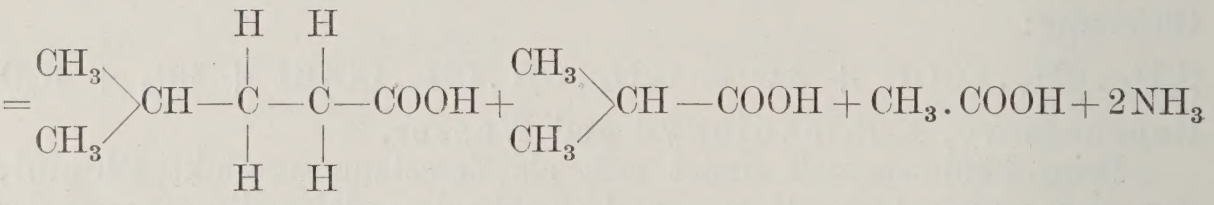
Wenn wir kurz die Körper, die die Fäulnis in der Natur liefert, aufzählen, so erhalten wir: Sämtliche Fettsäuren mit 1—6 Kohlenstoffatomen (Kapronsäure), Oxalsäure, Milchsäure und Bernsteinsäure;

aromatische Säuren; Alkohole und Kohlenwasserstoffe;
Schwefelsäure, Schwefelwasserstoff, Methylmerkaptan;
Phosphorsäure;
Kohlensäure, Stickstoff, gelegentlich Wasserstoff und Methan;
Ammoniak;
Wasser.

Die Bildung von Fettsäuren erfolgt auch unmittelbar von aliphatischen Monoaminosäuren, zum Beispiel von der α-Aminoisobutylessigsäure (Leucin), entsprechend der Gleichung:



Leucin



Isobutylessigsäure Isobuttersäure Essigsäure.

Die Aufspaltung in die letzten einfachsten Verbindungen, wie Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Phosphorsäure ist keine vollständige. Als Restprodukt bleibt eine kompliziert gebaute Substanz übrig, die man als Humus bezeichnet und die keineswegs einheitlicher Natur ist.

Der esentielle Unterschied zwischen Fäulnis und Verwesung in bezug auf die entstandenen Endprodukte dürfte wohl darin liegen, daß bei letzterer eine Reihe intermediärer Oxydationen von Zwischenprodukten auf Kosten des Luftsauerstoffes erfolgt, worauf besonders das Auftreten von Oxalsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure deutet. Meist findet dann auch eine erhebliche Entbindung von elementarem Stickstoff aus letzterer statt. Wenn wir auf das Mengenverhältnis der Zwischen- und Endprodukte bei der Fäulnis und Verwesung Rücksicht nehmen, so kommen wir zur Tatsache, daß bei ersterer die Fettsäuren und Basen als Zwischenprodukte überwiegen, während bei der Verwesung die einfachen Endprodukte vorherrschen. Die größere Bedeutung für den Abbau der Eiweißstoffe in der Natur kommt demnach auch der Verwesung zu.

Wir haben natürlich nur jene Zersetzungsvorgänge des tierischen und pflanzlichen Eiweißes bei der Fäulnis und Verwesung im Auge gehabt, die durch Bakterien hervorgerufen werden. In der Natur selbst sind niedere und höhere Tiere und besonders Schimmelpilze und andere Organismen noch an solchen Zersetzungsprozessen insofern beteiligt, daß sie ebenfalls Eiweißstoffe der Zersetzung zuführen, sie selbst teilweise durchführen und dabei neben Endprodukten Stoffe liefern, die wieder von den Bakterien zur Gänze abgebaut werden.

B. Bakterielle Spaltung von Säureamiden und Purinen.

1. Harnstoffgärung.

Im Stickstoffumsatz nimmt die Harnstoffgärung insofern hervorragend Anteil, weil große Mengen Harnstoff von den Tieren ausgeschieden werden. Der Harnstoff selbst ist eine der Pflanzenwelt nicht unmittelbar zugängliche Stickstoffquelle. Nur eine Gruppe von Mikroorganismen, die Harnstoffbakterien, sind ganz besonders befähigt, ihn abzubauen, während andere Mikroorganismen dies nur in untergeordnetem Maße vollführen können. Der äußeren Form entsprechend kann man mit Miquel die Harnstoffbakterien als Urococcus bzw. Urosarcina bezeichnen, sofern sie Kugelgestalt aufweisen, und als Urobacillus, wenn sie Stäbchenform besitzen. Wenn sie auch in der freien Natur sehr weit verbreitet sind, gedeihen sie doch am besten bei einer etwas unter 30° C liegenden Temperatur. Sie vermehren sich aber auch bei Zimmertemperatur schon sehr gut.

Gegen höhere Temperaturen, die nur wenig über dem bei ungefähr 40° C befindlichen Temperaturmaximum liegen, sind die echten Harnstoffbakterien sehr empfindlich. Auch die Sporen einiger Arten sind gegen Hitze verhältnismäßig wenig resistent, da sie schon zwischen 80 und 90° in Wasser innerhalb weniger Minuten vernichtet werden.

Desinfektionsmitteln gegenüber zeigen sich die Harnstoffbakterien wenig widerstandsfähig, denn Quecksilberchlorid in einer Menge von 1 : 40000—1 : 60000 den Nährsubstraten zugesetzt, hemmt sie schon in der Vermehrung.

Die Harnstoffbakterien verlangen in den Nährböden eine ziemlich stark alkalische Reaktion. Das Nährsubstrat soll von Haus aus schon 2—3 g Ammoniumkarbonat im Liter enthalten, wenn sich in demselben kein Harnstoff befindet. Hinsichtlich der Stickstoffquellen im Nährsubstrat sind diese Bakterien keineswegs anspruchsvoll, denn sie gedeihen im allgemeinen in allen üblichen Pepton enthaltenden Nährböden und auch in Hefewasser, das im Liter einen Zusatz von 2—3 g Harnstoff erhält.

Alle Harnstoffbakterien sind luftliebend, also aërob; hinsichtlich der Sauerstoffspannung ist die Wachstumsbreite aber groß, denn sie begnügen sich schon mit geringen Sauerstoffmengen, wenn sie auch am besten an der Luft gedeihen.

Die natürlichen Standorte der Harnstoffvergärer sind organisch verunreinigte Wasserläufe, Abortausläufe, Ackererde, Düngerstätten und besonders Gartenerde.

Wie schon oben angedeutet, findet sich in geringerem Maße die Fähigkeit zur Harnstoffvergärung bei vielen Bakterienarten, die bei der Eiweißfäulnis in der Natur beteiligt sind.

Die Harnstoffgärung selbst ist ein hydrolytischer Prozeß im Sinne der Gleichung:

$$CO\begin{matrix}NH_2\\NH_2\end{matrix} + 2\,H_2O = CO\begin{matrix}O-NH_4\\O-NH_4\end{matrix}$$

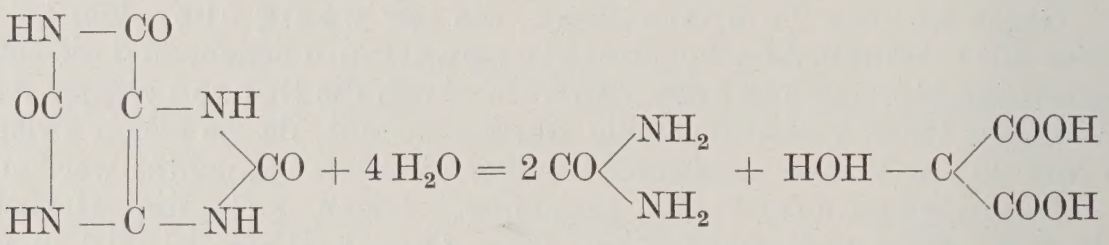
Es wird dabei also ein Molekül Harnstoff unter Aufnahme von 2 Molekülen Wasser in Ammoniumkarbonat gespalten. Diese Spaltung

wird enzymatisch beschleunigt. Das dabei wirksame Enzym ist die Urease. Sie ist ein Endoenzym im vollen Sinne des Wortes. Es hat viele Mühe gemacht, die Urease ungeschädigt aus der Zelle überhaupt herauszubekommen, denn es ist eines der empfindlichsten Enzyme.

Die Harnstoffspaltung durch die echten Harnstoffbakterien verläuft sehr intensiv. So vermag beispielsweise der Urobacillus Pasteurii in seinen Kulturen 2—3 g Harnstoff innerhalb einer Stunde zu kohlensaurem Ammon zu spalten.

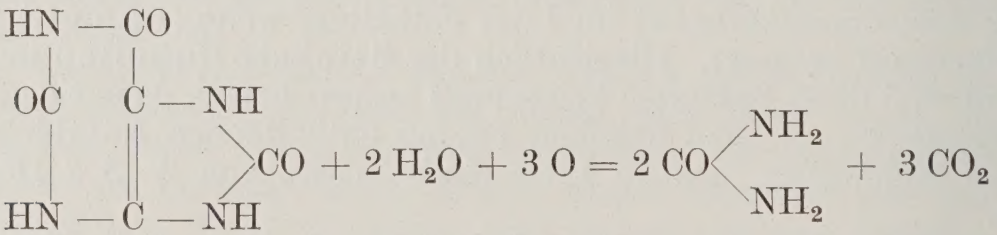
2. Vergärung von Harnstoffderivaten.

Bei der Fäulnis und bei der Verwesung treten zahlreiche Säureamide und Purmine auf, die einer speziellen mikrobiellen Zerlegung anheimfallen, wobei vielfach Harnstoff als ein Endprodukt erscheint. Ein Beispiel dafür bietet der bakterialle Abbau der Harnsäure (2—6—8 Trioxypurin). Derselbe erfolgt nach der Gleichung:



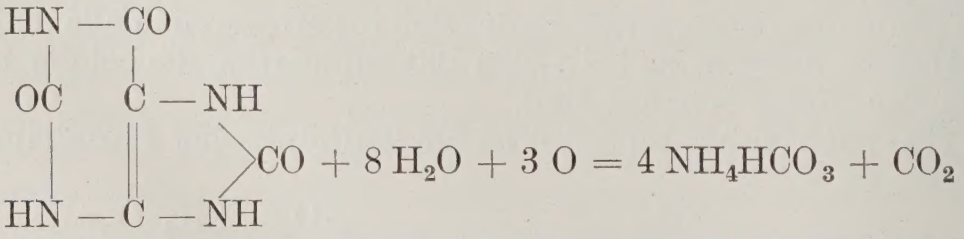
unter Aufnahme von vier Molekülen Wasser, wobei zwei Moleküle Harnstoff und ein Molekül Tatronsäure entstehen.

Die Spaltung kann aber auch durch gleichzeitige Hydrolyse und Oxydation vor sich gehen entsprechend der Gleichung:

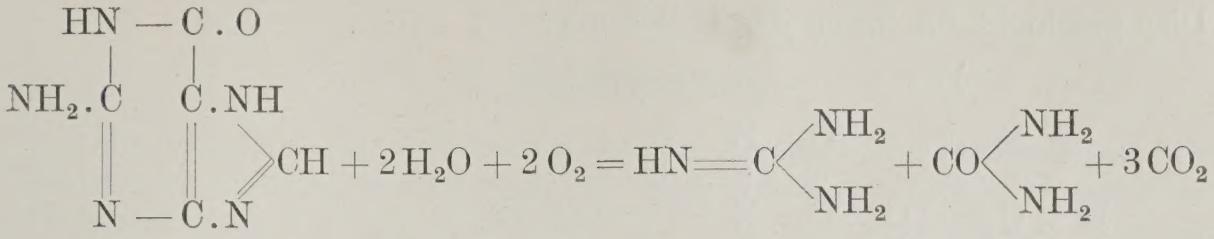


wobei Harnstoff und Kohlendioxyd entstehen.

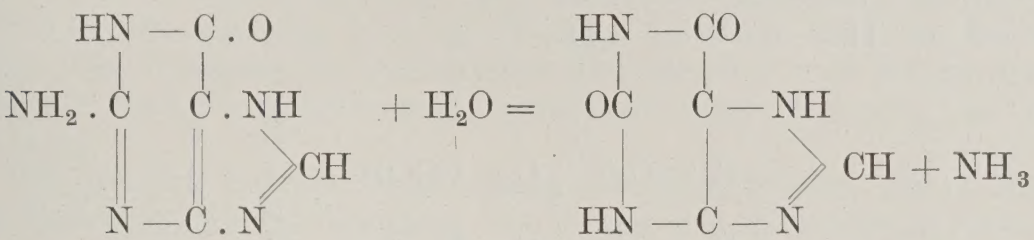
Allerdings kann die Harnsäure unter gleichzeitiger Hydrolyse und Oxydation viel tiefer bakteriell gespalten werden, so daß überhaupt nur mehr die einfachsten Endprodukte Ammoniak, bzw. Ammoniumbikarbonat und Kohlensäure erscheinen. In diesem Falle verläuft die Reaktion nach der Gleichung:



Auch der Abbau des Guanins (2-Amino-6-oxypurin) unter Aufnahme von Wasser und Sauerstoff liefert einerseits Guanidin und Kohlensäure und anderseits Harnstoff. Diese Spaltung erfolgt im Sinne der Gleichung:



Das Guanin wird übrigens durch Fäulnisbakterien anders zerlegt, wobei ein besonderes Enzym, die Guanase die Reaktion beschleunigen soll. Sie verläuft im Sinne der Gleichung:



Aus dem Guanin entsteht also Xanthin (2-6-Dioxypurin) und Ammoniak.

3. Gärung des Asparagins.

Säureamide, wie Formamid ($HCO.NH_2$), Acetamid ($CH_3.CONH_2$) usw. und das Halbamid der Amidobernsteinsäure, Asparagin, unterliegen sehr häufig einer mikrobiellen Spaltung, bei der durch weitere Hydrolyse endlich die entsprechenden Fettsäuren entstehen.

Das Asparagin vermögen zahlreiche Bakterienarten, wie Pseudomonas aeruginosa und Vertreter der Gruppe Bacillus proteus, hydrolytisch abzubauen, wobei als Reaktionsbeschleuniger ein besonderes Enzym, die Asparaginase, zu wirken scheint.

Die Reaktion verläuft im Sinne folgender Gleichung:

$$CO_2H \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CONH_2 + H_2O =$$
Asparagin
$$= CO_2H \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CO_2H + NH_3$$
Asparaginsäure (Amidobernsteinsäure).

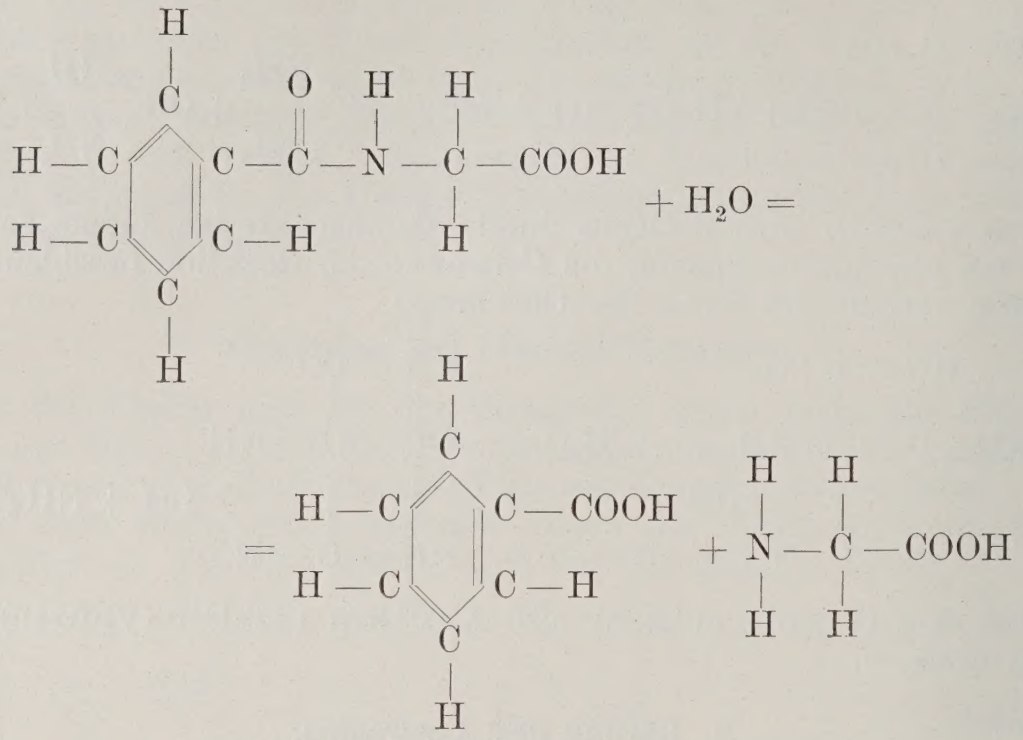
Beim weiteren Abbau gibt die Asparaginsäure dann Bernsteinsäure, die wieder einem weiteren Zerfall unterliegt.

4. Hippursäuregärung.

Die im Harn der Pflanzenfresser in großen Mengen abgegebene Hippursäure unterliegt einer mikrobiellen Zersetzung, deren Endprodukte Ammoniak, Kohlendioxyd und Benzoësäure sind. Letztere wird meist oxydativ weitergespalten. Die Erreger der Hippursäuregärung sind Bakterien, die meist vergesellschaftet mit den Harnstoffbakterien sich in der Natur finden. Es scheint übrigens einigen echten Harnstoffbakterien, wie z. B. dem Micrococcus ureae, die Fähigkeit innezuwohnen, auch die Hippursäurespaltung durchzuführen.

Bei dieser Zersetzung geht unter Wasseraufnahme die Hippursäure in Benzoësäure und Glykokoll (Aminoessigsäure) über.

Dies geschieht im Sinne der Gleichung:



Erst die zweite Etappe der Spaltung, die Oxydation des Glykokolls, liefert als Endprodukte Kohlensäure und Ammoniak.

5. Spaltung des Kalkstickstoffes.

Das Calciumcyanamid $CaCN_2$ oder der Kalkstickstoff, der im großen technisch bereitet und in der Landwirtschaft zur Düngung und Schädlingsbekämpfung viel benutzt wird, erleidet im Erdboden Zersetzungen, die zur Bildung von Harnstoff führen. Letzterer liefert bei seiner mikrobiellen Zersetzung bekanntlich Ammoniumkarbonat, das zum Teil schon selbst für die Pflanzenwelt eine ausnutzbare Stickstoffquelle vorstellt oder die Grundlage für die mikrobielle Bildung von Salpeterstickstoff abgibt. Die Zerlegung des Kalkstickstoffes ist natürlich nach verschiedenen Richtungen im Boden möglich, von denen auf die folgende besonders verwiesen sei. Dabei wird das Calciumcyanamid zuerst hydrolytisch gespalten entsprechend der Gleichung:

$$CN \,.\, CaN + 2\,H_2O = CN \,.\, NH_2 + Ca(OH)_2$$

wobei also Cyanamid und Calciumhydroxyd gebildet wird. Eine nun folgende Hydratation des Cyanamides führt zur Bildung von Harnstoff. Man pflegt diesen Vorgang als „Ammonisation" zu bezeichnen. Der so erzeugte Harnstoff unterliegt der schon geschilderten Harnstoffgärung durch harnstoffvergärende Bakterien. Es scheint übrigens die Vergärung des aus dem Kalkstickstoff stammenden Carbamides nur von einer kleinen Anzahl von harnstoffvergärenden Bakterienarten durchgeführt zu werden, die dafür besonders angepaßt sind. Es dürften die bei der Kalkstickstoffzerlegung frei werdenden Nebenprodukte viele empfindliche echte Harnstoffbakterien und auch andere, sonst Carbamid spaltende Mikroben, wie z. B. den Bacillus proteus, im Wachstum schädigen.

C. Nitrifikation.

Die Vorgänge der Zersetzung von organischen stickstoffhaltigen Verbindungen verlaufen im allgemeinen derart, daß stets große Mengen von Ammoniak in Freiheit gesetzt werden. Der Ammonstickstoff kann nur einer sehr beschränkten Anzahl von höheren Pflanzen als Stickstoffquelle dienen, Tieren überhaupt nicht. Es setzt nun hier ein mikrobieller Vorgang ein, durch den der Ammonstickstoff zu Salpeterstickstoff oxydiert wird. Dadurch entsteht eine Reihe salpetersaurer Verbindungen; letztere dienen nun den höheren Pflanzen in erster Linie als Stickstoffquelle. Den Vorgang der bakteriellen Oxydation von Ammonstickstoff zu Salpeterstickstoff bezeichnet man allgemein als Nitrifikation.

Wir müssen bei der Besprechung der Nitrifikation die in Reinkulturen sich abspielenden Vorgänge von denjenigen in der freien Natur herrschenden auseinanderhalten.

Für den ganzen Prozeß der Oxydation von Ammonstickstoff zu Salpetersäure kommen zweierlei Arten von Bakterien in Betracht, die in Reinkultur hintereinander arbeiten. Zuerst wird der Ammonstickstoff zu salpetriger Säure oxydiert. Dieser Vorgang wird durch eine bestimmte Bakteriengruppe, die Nitrosobakterien oder Nitritbakterien, unterhalten. Die salpetrige Säure wird dann von einer zweiten Bakteriengruppe, den Nitrobakterien oder Nitratbakterien, weiter zu Salpetersäure oxydiert. Bei beiden Prozessen dürfen aber weder freies Ammoniak noch freie salpetrige Säure und Salpetersäure in erheblicheren Mengen vorhanden sein. Außerdem soll die Nährflüssigkeit eine schwach alkalische Reaktion aufweisen. Beide Arten von Organismen gedeihen am besten und nitrifizieren am kräftigsten bei 37° C. Sie sind gegen Erhitzen sehr empfindlich, denn im allgemeinen werden die Nitritbildner schon innerhalb von 5 Minuten bei 45° C vernichtet, während die Nitratbildner in dieser Zeit erst bei 55° C absterben. Eine Sporenbildung wurde bei ihnen bisher nicht beobachtet. Die natürlichen Standorte und Fundorte der Nitrifikationsbakterien sind das Wasser und vornehmlich die oberen Erdschichten.

In bezug auf die Ernährungsansprüche verhalten sich beide Bakteriengruppen sehr ähnlich. Organische Stickstoffquellen und nicht einmal Amine werden durch sie zersetzt oder assimiliert. Nur der Ammonstickstoff in bestimmter Bindung dient den Nitritbildnern als Stickstoffquelle und die gebundene salpetrige Säure den Nitratbildnern.

Für die Nitrifikation eignen sich aber keineswegs alle Ammonverbindungen gleich gut. Es werden vielmehr einige besonders vorgezogen, was für schwefelsaures Ammon gilt, das am besten in einer Menge von 2—2,5 g im Liter nitrifiziert wird. Fast in der gleichen Konzentration werden das Ammoniumborat und Ammoniumfluorid oxydiert und vertragen, während alle übrigen untersuchten Ammonverbindungen nur in geringerer Konzentration dargereicht werden dürfen. Selbstverständlich findet die Oxydation nur bei Anwesenheit einer kohlensauren Base statt. Die in der Nährlösung sich ansammelnden Nitrite hemmen nun die weitere Ammoniakoxydation, wenn sie in größerer Menge vorhanden sind. Das gleiche gilt für die von vornherein etwa zugesetzten Nitrite. In dieser

Beziehung wirken die Alkalinitrite aber anders als die Nitrite der alkalischen Erden, indem erstere stärker hemmen als letztere.

Die Nitratbildner werden ebenfalls durch zu große Gaben von Nitrit gehemmt. Es hat sich gezeigt, daß die Nitratation dann am besten verläuft, wenn etwa 1 g Natriumnitrit im Liter zugegen ist. Jedenfalls darf aber die Menge nicht über 20 g im Liter steigen. Die Anhäufung von Nitraten ist der weiteren Nitritoxydation weniger hinderlich, da selbst eine Menge von 20 g $NaNO_3$ im Liter den Vorgang kaum ungünstig beeinflußt. Erst bei 25 g steht der Prozeß still. Auch die Nitrite von Schwermetallen werden in verhältnismäßig großen Mengen oxydiert, wie der Versuch mit Baryum-, Zink-, Blei-, Mangan- und Kupfernitrit lehrt. Dieselben können in Dosen von 0,5—1 g im Liter vorhanden sein. Schwefelsaures Eisenoxydul in einer Menge von 0,4 pro Mille fördert die Nitratation in augenfälliger Weise. Die künstlichen Nährsubstrate zur Reinzucht des Nitritbildners enthalten keine organischen Stickstoffverbindungen. Auch der Nitritbildner verträgt in der Kultur nur geringe Spuren gelöster organischer Stickstoffverbindungen.

In bezug auf die Kohlenstoffquelle verhalten sich beide Arten gleich. Sie brauchen keine organischen Kohlenstoffverbindungen, sondern assimilieren Kohlensäure im freien und halbgebundenen Zustand. Zur Entfachung der Entwicklung einer Zucht unserer Bakterien genügen aber schon Spuren von Kohlendioxyd. In der künstlichen Zucht werden die Nitrifikationsmikroben durch alle organischen Kohlenstoffverbindungen im Wachstum mehr oder weniger gehemmt, wenn sich auch die einzelnen Verbindungen in dieser Hinsicht verschieden verhalten.

Wir wollen zunächst die bekannten Nitritbildner kurz charakterisieren. Wir können da zwei Typen europäischer Arten unterscheiden.

Der westeuropäische Typus ist gegeben in den aus Züricher Erde und den aus der Erde von Gennevilliers in Frankreich gezüchteten Formen, die in jeder Beziehung einander außerordentlich ähnlich sind, so daß ihre Identität wohl außer Zweifel steht. Winogradsky bezeichnet ihn als Nitrosomonas. In einer passenden Nährflüssigkeit entwickeln sich zuerst die Bakterien nur langsam. Man findet ovale und kugelförmige Zellen in dem Bodensatz der klaren Kulturflüssigkeit nur in spärlicher Anzahl und meist zu sehr kleinen Zoogloeen vereinigt. In der Figur 114 bei *b* sind solche Häufchen abgebildet, in denen man gut die einzelnen Zellen unterscheiden kann. Die Zellen allein sind in *a* wiedergegeben. Nach 7—10tägiger Zucht beginnt sich die Kulturflüssigkeit zu trüben, was auf Schwärmerbildung zurückzuführen ist. Die freien Zellen messen im Mittel 0,9—1 μ in der Breite und 1,2—1,8 μ in der Länge. Sie tragen eine kürzere Geißel, wie es in *b* der Figur 114 dargestellt ist. Übrigens tritt manchmal die Neigung der Zellen in den Vordergrund, vornehmlich zu schwärmen, manchmal wieder hauptsächlich selbst große Wuchsverbände mit ruhenden Zellen zu bilden.

Bei der Zucht auf festen Nährsubstraten, wie auf der von Winogradsky eingeführten Kieselsäuregallerte oder den von Omelianski angegebenen Magnesiagipsplatten sind die Erscheinungen der Koloniebildung anders.

Auf der für die Reinzucht dieses Organismus hervorragend tauglichen Kieselsäuregallerte sind die jungen Kolonien fast ungefärbt und stark

lichtbrechend. Nach etwa 14 Tagen bräunen sie sich intensiv, und von diesen braunen Zentren verbreiten sich helle Auflagerungen in die Umgebung. In *d* der Figur 114 sind diese Verhältnisse zur Darstellung gebracht.

Auf der Magnesiagipsplatte erscheinen nach 4—5 Tagen kleine, gelbliche, zarte Auflagerungen, die wie Wärzchen aussehen und sich später dunkel braungelb verfärben. Sie erreichen im Maximum einen Durchmesser von etwa einem halben Millimeter. Von ihnen gehen dann ebenfalls flächenhafte Auflagerungen von hellgelber Farbe aus. In *e* der Figur 114 sind zwei Stücke von Magnesiagipsplatten mit ihren Kolonien gezeichnet, links die warzenförmigen Gebilde, rechts die ältere von diesen Kern ausgehende dünne Auflagerung.

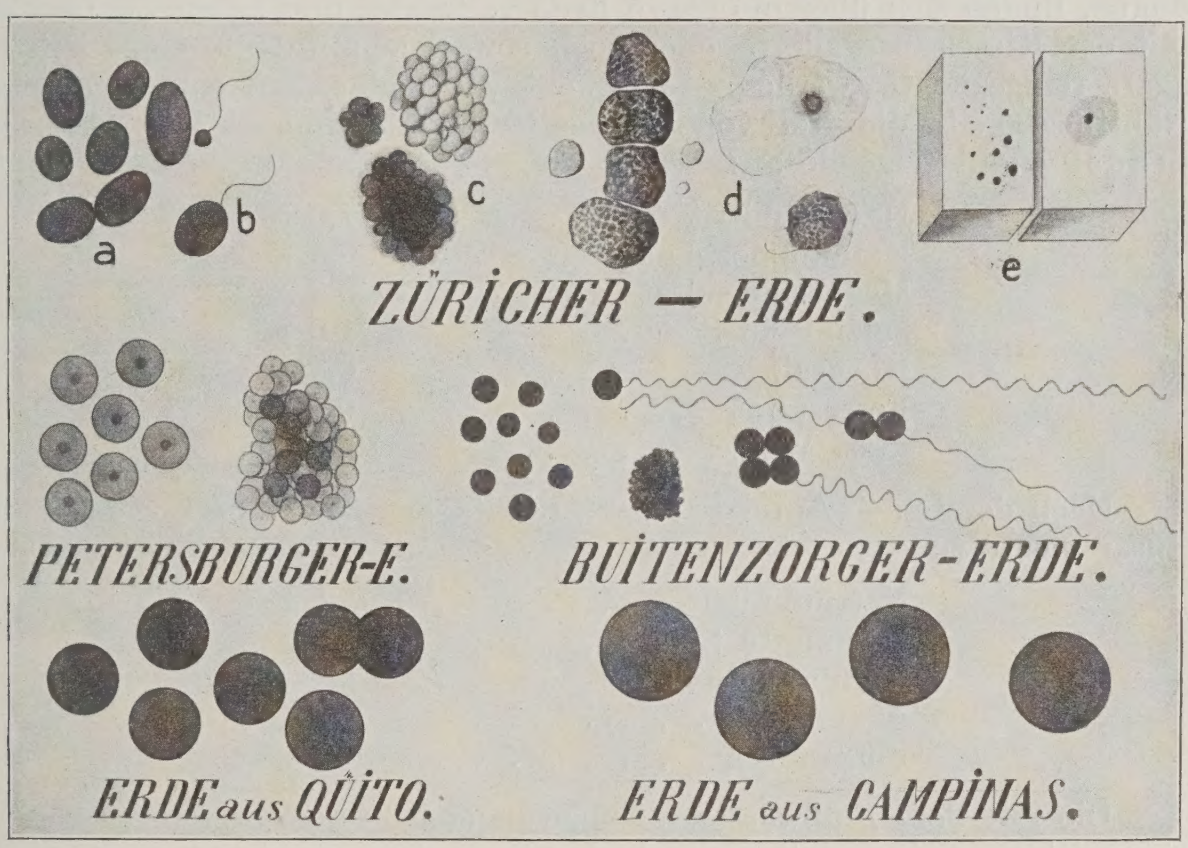


Fig. 114.

Das aus Petersburger Erde gezüchtete Nitritbakterium, als Typus der osteuropäischen Art, gehört zu den Kugelbakterien. Sein Durchmesser beträgt etwa 1 μ. Morphologisch interessant ist ein in der Zelle immer sichtbares, zentrales Körperchen, das sich besonders durch Methylenblaufärbung darstellen läßt. In Figur 114 sind die Zellen allein und zu einer Zoogloea vereinigt abgebildet.

Gut untersucht ist auch ein Nitritbildner aus Java, der aus Erde von Buitenzorg reingezüchtet worden ist. Derselbe ist eine sehr kleine Kugelbakterie von 0,5—0,6 μ Durchmesser, der eine außerordentlich lange Geißel trägt, die mitunter eine Länge von 30 μ erreicht. Auch dieses Nitritbakterium bildet in Flüssigkeiten zuerst sehr dicht gefügte Zoogloeen, in denen die Zellen kaum zu unterscheiden sind. In der Figur 114

sehen wir die begeißelte Form derselben samt einem kleinen Wuchsverband abgebildet.

Aus südamerikanischer Erde, die aus Quito stammt, hat Winogradsky einen sehr großen Nitritkokkus isoliert, dessen Zellen 1,5—1,7 μ im Durchmesser besaßen. Auch ihm kommt die Eigenschaft der Zoogloeenbildung zu. Auch er ist in Figur 114 abgebildet. Der aus Erde von Campinas in Brasilien stammende Nitrosokokkus, der ebenfalls in Figur 114 abgebildet ist, besitzt eine enorme Größe, denn seine Zellen messen bis zu 2 μ im Durchmesser.

Winogradsky hatte noch eine Reihe anderer außereuropäischer Erdproben auf Nitritbakterien untersucht und solche auch tatsächlich überall nachweisen können.

Auch die Nitrobakterien, die also Nitrite zu Nitraten oxydieren, finden sich über die ganze Erde verbreitet und können entweder mit der Kieselsäuregallerte oder noch einfacher mit Hilfe eines Nitritagars reingezüchtet werden. Zur Zucht verwendet man eine alkalische Nährflüssigkeit, die frei von organischen Verbindungen ist. Winogradsky gibt folgende an:

Natriumnitrit	1,0 g
Kaliumphosphat	0,5 g
Magnesiumsulfat	0,3 g
kalzinierte Soda	1,0 g
Kochsalz	0,5 g
Ferrosulfat	0,4 g
dest. Wasser	1000 ccm

Nach demselben Autor hat der „Nitritagar" zur Isolierung folgende Zusammensetzung:

Natriumnitrit	2 g
kalzinierte Soda	1 g
Kaliumphosphat	Messerspitze
Agar	15 g
Flußwasser	1000 ccm

Die mit dem Flußwasser hineingelangende Menge organischer Substanz ist so gering, daß dadurch das Wachstum nicht gehemmt wird. Übrigens enthält der Agar ebenfalls eine nicht unbeträchtliche Menge löslicher organischer Substanz, die anscheinend hier ebenfalls nicht schädlich wirkt.

Die Untersuchung der Erdproben aus verschiedenen Gebieten der Erde auf Nitratbakterien mit Hilfe des Nitritagars ergab, daß für diesen Vorgang überall eine sehr ähnliche Bakterienart in Betracht kommt. Dieselbe bildet sich auf dem genannten Nährboden unter Bildung von schleimtröpfchenartigen Kolonien, die nach etwa zwei Wochen einen maximalen Durchmesser von 100—180 μ erreichen. Die Vermehrung geht also sehr langsam vonstatten. Es handelt sich beim Nitratbildner um sehr kleine Stäbchenbakterien mit verjüngten Enden, deren Länge kaum 1 μ erreicht und deren Breite ca. 0,3—0,4 μ mißt. Die äußeren Teile ihrer Membran sind in eine Schleimhülle verwandelt, die man durch Kapselfärbungsverfahren nachweisen kann. Winogradsky konnte an seinen Nitratbakterien keine Schwärmzustände beobachten.

Wir haben aus den bisher mitgeteilten Befunden mit Recht den Schluß gezogen, daß die Nitritbildner und die Nitrobakterien organische Substanzen in den Reinkulturen nicht vertragen. Neuere Versuche haben indessen ergeben, daß sich die Nitrifikationsbakterien bei der Verwendung anderer Nährsubstanzgrundlagen in dieser Hinsicht anders verhalten. Züchtet man diese Bakterien in Erdnährböden, die also den natürlichen Verhältnissen näherkommen, so wirken Zusätze von Zucker und besonders Humus nicht nur nicht hinderlich auf die Nitrifikation, sondern fördern dieselbe sogar in manchen Fällen. Auch die Anwesenheit von anderen Bakterien oder Pilzen in lebendem oder totem Zustande verhinderte in Versuchen mit Erde die Nitrifikation keineswegs.

Alle diese Versuche nähern sich schon sehr den Verhältnissen in der freien Natur, wo doch im größten Umfange die Nitrifikation in der wärmeren Jahreszeit auftritt. Dort gilt auch die aus den Laboratoriumsversuchen an Reinkulturen und Rohkulturen mit bestimmten Nährlösungen gewonnene Erfahrung nicht, daß die beiden Etappen der Ammoniumoxydation zu Salpeter zeitlich getrennt voneinander verlaufen und die Nitritbakterien zuerst den größten Teil des Ammoniumkarbonates in Nitrit verwandeln und dann erst die Nitratbildner mit ihrer Tätigkeit einsetzen. Finden wir doch in der Natur höchst geringe Mengen von Nitriten und fast immer ausschließlich Nitrate. Hier herrschen eben weitaus andere äußere Bedingungen, die ein unmittelbares und zeitlich nicht getrenntes Arbeiten der Mikroben ermöglichen. Diese Bedingungen haben wir lange noch nicht erkannt. Es sollen uns aber diese Erfahrungen zur Vorsicht mahnen, wenn wir geneigt sind, mit den aus Laboratoriumsversuchen gewonnenen Erkenntnissen die in der freien Natur sich im großen abspielenden Umsetzungen ohne weiteres erklären zu wollen. Wir müssen im Gegenteil bestrebt sein, in diesen Versuchen den natürlichen Verhältnissen möglichst nahezukommen.

D. Denitrifikation.

Für eine Möglichkeit der unmittelbaren Entbindung elementaren Stickstoffes aus Eiweißkörpern bei der Fäulnis sprechen allerdings einige Versuchsergebnisse. Die Hauptmenge elementaren Stickstoffes, die bei der Fäulnis und vornehmlich bei der Verwesung in Freiheit gesetzt wird, entstammt aber den dabei entstehenden salpetersauren Verbindungen. Den Vorgang der Umwandlung des Salpeterstickstoffes in elementaren oder oxydierten gasförmigen Stickstoff bezeichnet man als Denitrifikation.

Die Denitrifikationsvorgänge spielen sich hauptsächlich in Salpeterlösungen ab, die mit frischem Tierkot oder mit Stallmist versetzt sind. Die Denitrifikationsmikroben sind in der Natur sehr weit verbreitet und verdanken ihre Ausbreitung gerade den tierischen Exkrementen. Wenn auch ihre Zahl in dem älteren, verrotteten Miste erheblich abnimmt, so sind sie selbst in sehr alten Proben desselben noch lebensfähig erhalten.

Der Verlauf der Denitrifikation ist nun von äußeren Bedingungen sehr abhängig. Von besonderer Bedeutung ist dabei die den verschiedenen Denitrifikationsmikroben neben den salpetersauren Verbindungen gleichzeitig zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle. Im allgemeinen soll dieselbe so beschaffen sein, daß bei deren Zerlegung keine größeren Mengen freier Säure entstehen, da nur in schwach alkalischer Reaktion der Denitrifikationsprozeß energisch verläuft und die entsprechenden Mikroben sich gut vermehren. Dementsprechend erweisen sich die Salze organischer Säuren, insonderheit der Apfel- und Zitronensäure, als die günstigsten Kohlenstoffquellen. Aus demselben Grunde sind die Kohlehydrate und Alkohole im allgemeinen für den Denitrifikationsprozeß weniger günstig. Bei ihrer Aufspaltung entstehen eben die Mikroben schädigenden freien organischen Säuren. Allerdings muß gleich bemerkt werden, daß es auch Ausnahmen gibt. Eine besondere Stellung unter den Denitrifikationsbakterien nimmt der Thiobacillus denitrificans ein, den Beijerinck eingehend untersuchte. Diese Bakterie benutzt als Kohlenstoffquelle bei sonstiger reiner anorganischer Nahrung die Kohlensäure und denitrifiziert das dem Nährboden zugesetzte Kaliumnitrat kräftig, sofern ihr auch freier Schwefel zur Verfügung steht. Hier soll der Vorgang der Stickstoffentbindung nach Beijerinck entsprechend den Formeln vor sich gehen:

$$6\,KNO_3 + 5\,S + 2\,CaCO_3 = 3\,K_2SO_4 + 2\,CaSO_4 + 2\,CO_2 + 3\,N_2.$$

Die Analyse ergibt allerdings eine bedeutend größere Menge freien Stickstoffes, als verbrauchtem Schwefel der obigen Formel entspricht. Beijerinck will nun dieses Plus an Stickstoff auf Denitrifikationsprozesse beziehen, die sich auf Kosten toter organischer Substanz (tote Bakterienleiber) abspielen.

Als Stickstoffquelle für die denitrifizierenden Mikroorganismen kommen alle möglichen Stickstoffverbindungen in Frage, soweit es sich um den Aufbau ihrer Leibessubstanz handelt. Der Denitrifikation unterliegt, wie schon einleitend bemerkt, der Nitrat- und Nitritstickstoff, der in vielen Fällen auch als alleinige Stickstoffquelle fungieren kann; dann wird eine erhebliche Menge desselben assimiliert, also im Bakterieneiweiß gebunden.

Als Endprodukt der Denitrifikation sehen wir entweder das Auftreten von elementarem Stickstoff allein oder daneben noch die Bildung von Stickoxydul und Stickoxyd oder endlich die letztgenannten gasförmigen Stickstoffverbindungen im Vordergrund.

Die Abspaltung des elementaren Stickstoffes aus Nitriten oder Nitraten können wir mit Löhnis zweckmäßig als direkte Denitrifikation bezeichnen und von der indirekten trennen, bei der oxydierter Stickstoff in großer Menge entbunden wird.

Die direkte Denitrifikation liefert sehr viel elementaren Stickstoff, der aus einer Reduktion des Nitrates und Nitrites entsteht. Ob es sich dabei um eine Reduktion handelt, die auf Kosten des Kohlenstoffes einer besonderen Kohlenstoffquelle durchgeführt wird, oder um eine Wasserstoffreduktion oder beider in den verschiedenen Stadien des Vorganges, wissen wir nicht sicher; die Ansichten der einzelnen Forscher gehen darin auseinander.

Nach Beijerinck soll übrigens die Reduktion immer über das Nitrit und Stickoxydul nach folgenden Formeln verlaufen, wobei C den Kohlenstoff einer spaltbaren Kohlenstoffquelle bedeutet:

$$2\,NO_3K + C \ldots = 2\,NO_2K + CO_2$$
$$2\,NO_2K + C \ldots = 2\,N_2O + CO_3K_2$$
$$2\,N_2O + C \ldots = 2\,N_2 + CO_2.$$

Nach der Anschauung von Franzen und Löhmann soll es sich bei der Entbindung des elementaren Stickstoffes um eine katalytische Zersetzung des gebildeten salpetrigsauren Ammons handeln.

Als direkt denitrifizierend wurde eine Reihe von Bakterienarten erkannt, von denen hier die wichtigsten samt ihren Fundorten genannt seien.

Nur Nitrite denitrifizierend:

Bacillus denitrificans I, Burri u. Stutzer . . .	aus Stroh, Erde u. Pferdemist
Bacillus praepollens, Maßen	aus Menschenfäzes.

Nitrate denitrifizierend:

Bacillus denitrificans II, Burri u. Stutzer . .	aus Stroh, Erde, Luft.
Bacillus denitrificans Ampola u. Garino . . .	aus Kuhkot.
Bacillus filefaciens Jensen	als Verunreinigung einer Reinkultur.
Bacillus Schirokikhi Jensen	aus Pferdemist.
Bacillus centropunctatus Jensen	aus Kuhkot, Meerschweinchenfäzes.
Bacterium nitrovorum Jensen	aus Pferdemist.
Bacillus Hartlebii Jensen	aus Erde.
Pseudomonas pyocyanea	aus Staub, Faulwasser, Erde usw.
Bacillus radiobacter Beijerinck u. Van Delden	Erde usw.
Laktobazillen und Laktokokken	aus bulgarischer Dickmilch (Milchsäurebakterien).
Bacterium Actinopelte Bacterium lobatum . . Bacillus Hensenii . . . } Gran	aus Nordseewasser.
Micrococcus denitrificans Beijerinck	aus Gartenerde.
Bacillus nitroxus Beijerinck	aus Ackerstaub, mit dem Eiweißlösungen infiziert wurden.

Diese Liste ließe sich noch durch zahlreiche andere, mehr oder minder gut beschriebene Denitrifikatoren vervollständigen, die aber der einen oder anderen angeführten Art sehr nahe stehen.

Aus den eingehenden Untersuchungen Beijerincks hat es sich nun ergeben, daß unter geeigneten Züchtungsbedingungen mehr oder minder große Mengen Stickoxydul neben elementarem Stickstoff von einzelnen der eben angeführten Bakterienarten bei der Denitrifikation des Salpeters gebildet werden. Nach unserer obigen Definition würden diese Arten allerdings zu den Erregern der indirekten Denitrifikation gehören. Da die Stickoxydulbildung jedoch vornehmlich bei sehr langer Versuchsdauer und nur unter besonderen Bedingungen neben der Ausscheidung elementaren Stickstoffes in den Vordergrund tritt, können wir sie allen Rechtes bei den Erregern der direkten Denitrifikation vorläufig belassen. Übrigens ist das Auftreten von Stickoxydul in größeren oder kleineren Mengen nicht auffallend, wenn der Denitrifikationsprozeß über oxydierten Stickstoff als Zwischenprodukt vor sich geht, wie es aus den oben angegebenen Formeln hervorgeht.

Die direkte Denitrifikation ist ein Prozeß, der am besten bei Anwesenheit geringer freier Sauerstoffmengen verläuft, wenn auch die Reduktion des Nitrates zu Nitrit davon als unabhängig angesehen werden darf. Die Entbindung freien Stickstoffes hört bei starker Durchlüftung vollständig auf. Der Vorgang gehört im allgemeinen zu den anaëroben Prozessen.

Die günstigste Temperatur liegt für die Denitrifikation zwischen 27 und 37° C und ist natürlich abhängig von dem Temperaturoptimum der im gegebenen Fall vornehmlich tätigen Bakterienart.

Die indirekte Denitrifikation liefert als Hauptprodukte der Nitrat- und Nitritzersetzung Stickoxydul und Stickoxyd, daneben auch elementaren Stickstoff, Wasserstoff und Kohlendioxyd, Diesen Prozeß lösen zahlreiche Bakterienarten und Sproß- und Schimmelpilze aus. Dabei ist der ungehinderte Zutritt des freien Luftsauerstoffes ohne wesentlich ungünstigen Einfluß auf den Fortgang der Denitrifikation.

Daß eine Stickstoffausscheidung aus organischer Substanz infolge bakterieller Tätigkeit sowohl unter aëroben als auch unter anaëroben Bedingungen auftreten kann, haben wir schon bei der Fäulnis gehört. Diese Vorgänge haben mit der Denitrifikation, wie wir sie umgrenzten, nichts zu tun, obwohl es sich auch um eine Bildung elementaren Stickstoffes handelt. Das gleiche gilt für die unter Abspaltung von Stickstoff eintretende Ammoniakoxydation, auf die ja möglicherweise die Stickstoffentbindung unter anaëroben Bedingungen zurückgeht. Die Oxydation des Ammoniaks könnte nach König entweder mit freiem Sauerstoff nach der Gleichung:

$$4\,NH_3 + 6\,O = 6\,H_2O + 4\,N$$

oder mit Wasserstoffperoxyd nach der Gleichung:

$$2\,NH_3 + 3\,H_2O_2 = 6\,H_2O + 2\,N$$

sich vollziehen.

Sicherlich ist in der freien Natur die Denitrifikation kein einheitlicher Prozeß, da ja ein förmliches Heer verschiedenster Mikroorganismenarten dabei am Werke ist. Es ist dieselbe ein sehr gemischter Vorgang, der von gleichzeitig und nacheinander auftretenden Mikrobenarten unterhalten wird.

E. Stickstoffbindung.

Der in der Atmosphäre reichlich vorhandene elementare Stickstoff wird nun durch zahlreiche pflanzliche Mikroorganismen gebunden und dadurch dem Stickstoffkreislauf über die höhere Pflanze wieder zugeführt.

Dieser Prozeß der Aufnahme gasförmigen Stickstoffes und Überführung desselben in organische Verbindungen des Plasmas vollzieht sich im allgemeinen entweder durch Bakterien, die sich in Teilen höherer Pflanzen (Wurzeln) angesiedelt haben oder durch frei im Boden lebende Spaltpilze.

1. Knöllchenbakterien der Leguminosen.

Es ist eine längst bekannte Tatsache, daß nach der Ernte des Klees eine Düngung der betreffenden Felder überflüssig ist und daß Klee

und kleeartige Pflanzen auch auf Äckern ausgezeichnet gedeihen, die nicht nur nicht gedüngt worden sind, sondern vorher durch längere Zeit mit Getreidearten bepflanzt waren. Man trennte in richtiger Erkenntnis der Verhältnisse die Kulturpflanzen in zwei große Gruppen, indem man die Vertreter der Familie Schmetterlingsblütler als Stickstoffmehrer den übrigen Kulturpflanzen, wie Halmfrüchten usw., gegenüberstellte und diese als Stickstoffzehrer bezeichnete. Man beobachtete auch schon sehr früh an der Wurzeln der Stickstoffmehrer größere und kleinere, knöllchenartige Anschwellungen, deren Bedeutung man im Laufe der Zeit sehr verschieden deutete und schließlich erkannte, daß gerade sie bei der Stickstoffassimilation einzig und allein wirksam sind. Später fand man in den Knöllchen bakterienartige Einschlüsse, die sich schließlich als Abkömmlinge gewisser Bodenbakterien entpuppten. Man bezeichnet nun die solche Knöllchen an den Leguminosenwurzeln erzeugenden Bakterien kurzweg als Knöllchenbakterien der Leguminosen.

Die in den Knöllchen vorhandenen Bakterien zeigen eine sehr veränderte Gestalt, weshalb man sie nach dem Vorgange Brunhorsts „Bakterioiden" nannte. Der genannte Forscher leugnete zwar die Bakteriennatur dieser Gebilde und wollte damit nur die Bakterienähnlichkeit derselben zum Ausdruck bringen. Trotzdem blieb der Name auch für die formveränderten Bakterien erhalten. Es hat sich in der Folge durch zahlreiche Versuche tatsächlich ergeben, daß die Leguminosen nur mit Hilfe dieser Bakterien, die in ihre Wurzel eindringen und dort die Knöllchenbildung verursachen, in die Lage versetzt werden, den elementaren Stickstoff über dieselben hinüber auszunützen. Fehlen die Bakterien und damit auch die Knöllchen, dann ist auch für sie der Luftstickstoff unzugänglich.

Alle Fragen der Biologie dieser außerordentlich interessanten Bakteriengruppe sind noch keineswegs annähernd beantwortet, obwohl sich zahlreiche Forscher dem Studium derselben mit größter Mühe unterzogen haben. Seitdem es Beijerinck gelungen ist, Knöllchenbakterien auf saurer Papilionaceengelatine in sicherer Reinkultur zu erhalten, haben zahlreiche Untersucher dieselben ebenfalls reingezüchtet und damit Impfversuche an keimfrei aufgezogenen Leguminosenpflänzchen ausgeführt. Die Impfversuche haben nun ergeben, daß die Knöllchenbakterien durch die Wurzelhaarspitze in erster Linie ins Wurzelgewebe der noch sehr jungen Leguminose eindringen. Schon nach einigen Tagen sind unter der hirtenstabartig gekrümmten Wurzelhaarspitze bereits Bakterienkolonien mikroskopisch nachzuweisen; unter denselben treten Wandverdickungen mit tüpfelartigen Stellen auf, ein untrügliches Zeichen der stattgehabten Infektion der Pflanze.

Von dort zieht sich dann ein Infektionsfaden weiter. In demselben entwickeln sich in einer stark verschleimten Grundmasse, die von den Bakterien selbst stammt, die eingewanderten Bakterien massenhaft und es entsteht in der Wurzel das Bakterioidengewebe. Offenbar durch Reizwirkung von Seite der Mikroben angeregt, setzt dort eine üppige Zellteilung der Wurzelzellen ein, wodurch die Knöllchen selbst gebildet werden. Den Vorgang der Infektion kann man an jungen Erbsen- und Wickenpflänzchen gut beobachten, an denen der Infektionsfaden deutlich zu sehen ist, wie Pražmowski angibt, dem wir diese Beobach-

tungen verdanken. Die Knöllchen erreichen bei den einzelnen Leguminosen eine sehr verschiedene Größe, von wenigen Millimetern bis zu Zentimetern im Durchmesser betragend. In der Figur 115 sind die mit Knöllchen besetzten Wurzeln von drei Leguminosen abgebildet. *A* zeigt uns die Knöllchen einer Lupine, *B* diejenigen von Lathyrus sativus und *C* endlich die Anschwellungen an der Wurzel von Cicer arietinum (Kichererbse). Die Oberfläche der Knöllchen weist ebenfalls große Verschiedenheiten auf. Im allgemeinen bestehen die Knöllchen aus einer mehr oder minder großen Anzahl kleiner, untereinander zusammenhängender, sekundärer Knöpfchen, wodurch das hirnartige Aussehen der

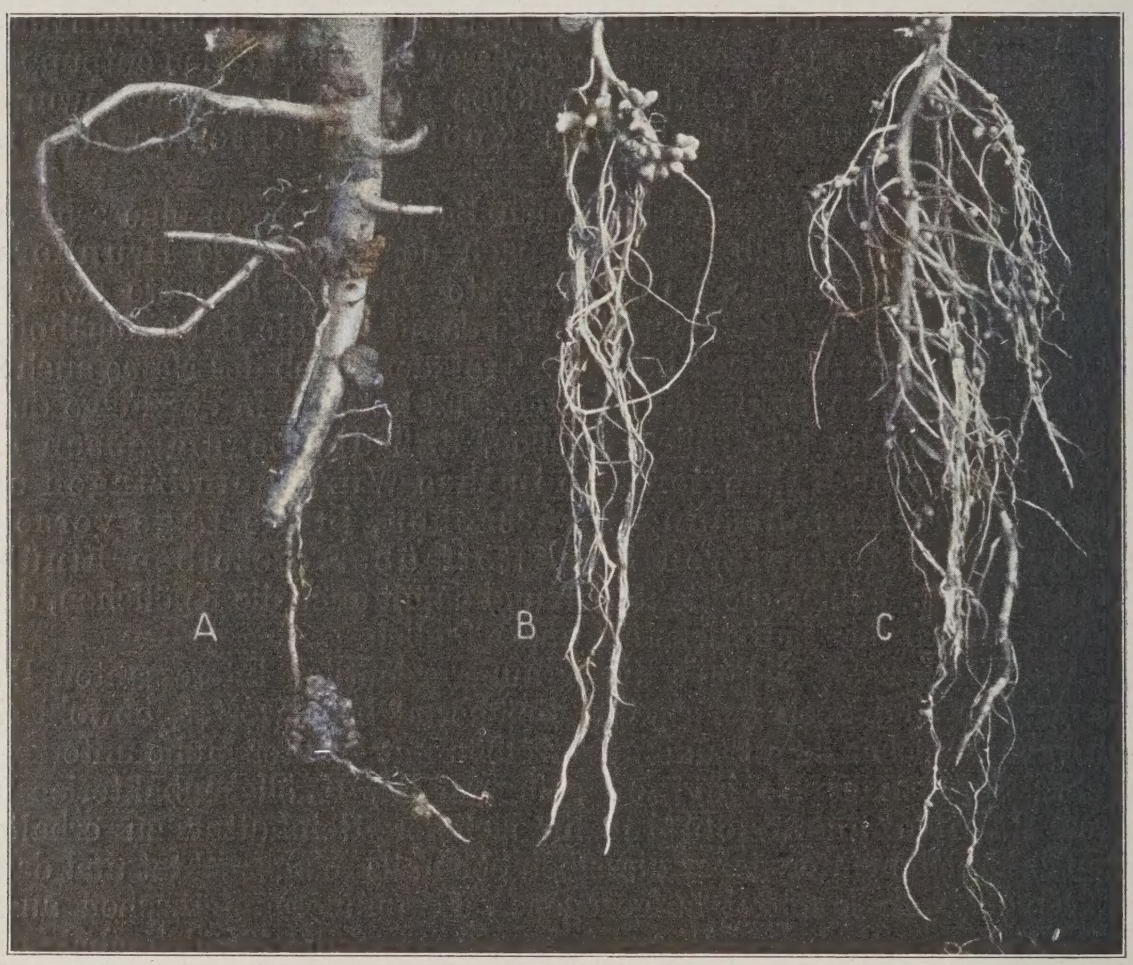


Fig. 115.

großen Lupinenknollen bedingt wird. Die Oberfläche der Knöllchen von Cicer arietinum erscheint makroskopisch glatt und glänzend, während dieselbe unter dem Mikroskop sich als sehr feinhöckerig erweist, wie es die Abbildung *A* der Figur 116 erkennen läßt.

Die Verteilung der Knöllchen über die ganze Wurzel ist meist nicht regelmäßig, aber charakteristisch. Vielfach sitzen sie nur an den oberen Wurzelteilen in der Nähe der Oberfläche oder sie finden sich auch oft über die ganze Wurzel verteilt. Gewiß liegt hierfür der Grund keineswegs in einer zufälligen Verteilung der Bakterien in der Wurzelnähe oder in einer Produktion von Reizstoffen durch die Pflanze selbst an ganz bestimmten Stellen der Wurzel. Kurz nach dem Eindringen der Bakterien scheint die Pflanze gegen weitere Angriffe von Seite derselben durch eine

Art Immunisierung geschützt zu werden, weshalb die zuerst einbrechenden Bakterien sich wohl in der Pflanze etablieren, ein weiterer Zuzug und damit eine Bildung neuer Knöllchen wird aber dadurch verhindert.

Das Knöllchen selbst besteht aus dicht gedrängten, polyedrischen Zellen, deren Inneres fast ausschließlich mit Bakterioiden erfüllt ist. *C* der Figur 116 zeigt uns solche Zellen aus einem Schnittpräparat von einem Knöllchen. Hier liegen dichtgedrängt die Bakterien und lassen höchstens im Zentrum einen kleinen Raum frei. Vom Zellplasma ist kaum mehr etwas zu sehen. Nur der Kern fällt in gefärbten Präparaten auf.

Die Bakterioiden sind nun ein besonderer Entwicklungszustand der Leguminosenbakterien, aus dem die gewöhnliche

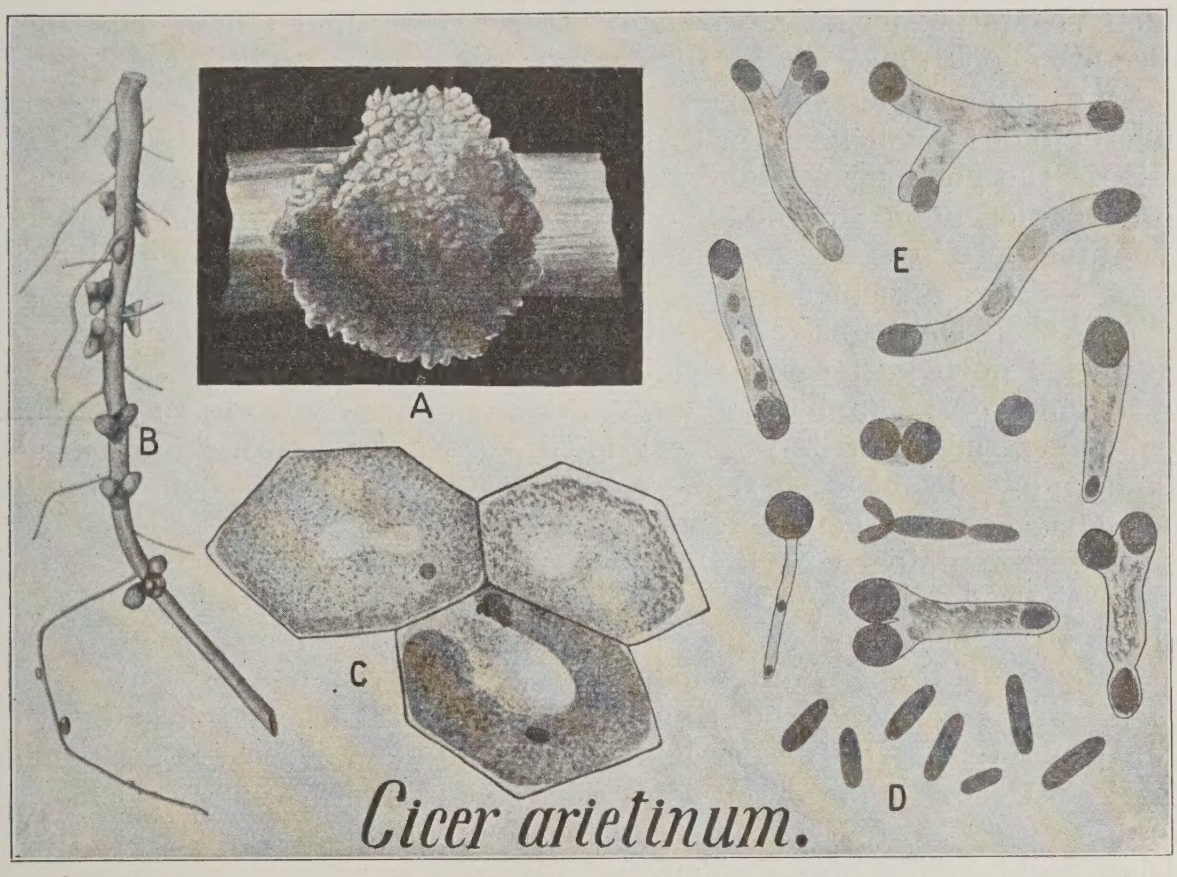


Fig. 116.

Bakterienform ohne weiteres in geeigneten Nährsubstraten wieder hervorgeht. Es scheint sich um verzweigte und vergrößerte Formen zu handeln, deren Plasma eine andere Beschaffenheit aufweist als dasjenige der gewöhnlichen Vegetationsform. Wie an den in Figur 116 *E* abgebildeten Bakterioiden der Kichererbse zu entnehmen ist, sondert sich in denselben das Plasma in zwei sowohl färberisch wie durch Jod darstellbare Substanzen. Daß es sich dabei nicht um örtlich zusammengeballte Plasmaklumpen handeln kann, zeigt schon das Verhalten des Inhaltes der Bakterioiden zu Jodlösungen, denn in dem hellgelb gefärbten Plasma mit seinen netzartigen Strukturen liegen tiefbraun tingiert diese runden oder ovalen Körper. Übrigens sollen diese nach Jodbehandlung rotbraunen Granula aus zweierlei Substanzen bestehen, einer plasmatischen Grundlage und einer die Jodreaktion liefernden Substanz, die

verbraucht und wieder erneuert wird. Wahrscheinlich steht letztere dem Glykogen nahe.

Dasselbe könnte ja einem ständigen Verbrauch im Haushalte der Bakterioiden unterliegen und dementsprechend immer wieder neugebildet werden, zumal es sich in diesen Zellen um keine Involutionsformen handelt, sondern um lebensfrische Organismen. Eine Vermehrung der Bakterioiden durch Teilung derselben zu neuen Bakterioiden ist wohl nach den neuesten Untersuchungen ausgeschlossen. Trotzdem kann dieselbe über die vegetative Stäbchenform derselben ganz gut erfolgen, da es sich ergeben hat, daß aus den verzweigten Formen unmittelbar Vegetationszellen von gewöhnlicher Gestalt hervorgehen, die in *D* der Figur 116 wiedergegeben sind. Man könnte sich den Vermehrungsvorgang im Knöllchen so vorstellen, daß nach einer gewissen Zeit aus den Bakterioiden Vegetationsformen entstehen, die sich einigemal teilen. Die Tochterzellen gehen dann wieder in die Bakterioidenform über.

Wie schon einigemal angedeutet, vegetieren die Knöllchenbakterien außerhalb des Knöllchens im Boden in Form gewöhnlicher Stäbchenbakterien. Die gelungenen Reinkulturen derselben enthalten meist auch in der überwiegenden Mehrheit die Vegetationsform, wenn nicht besondere Züchtungsverfahren eingeschlagen werden. Im allgemeinen ist die Kultur dieser Bakterien nicht schwierig. Sie wachsen zwar auf den meisten gebräuchlichen Nährsubstraten mit Ausnahme der Kartoffel schlecht oder gar nicht, doch gut, wenn Gelatine oder Agar mit Auszügen oder Abkochungen von Leguminosenpflanzen, -Samen oder -Wurzeln zu Nährsubstraten verarbeitet wird. Die Reaktion dieser Nährsubstrate kann schwach alkalisch oder leicht sauer sein. Wenn darauf von den frischen, äußerlich möglichst keimfrei gemachten und dann zerquetschten Knöllchen verimpft wird, entstehen nach 2—6 Tagen weißliche durchscheinende, makroskopisch sichtbare Auflagerungen, die in kurzer Zeit sehr stark verschleimen. Dieselben bestehen aus kleinen Stäbchenbakterien, die sich, im hängenden Tropfen untersucht, zum Teil als gut beweglich erweisen. Es scheint eine peritriche Begeißelung derselben vorzuliegen. Das Temperaturoptimum der Knöllchenbakterien liegt etwa bei 18 bis 22° C. Gegen höhere Temperaturen sind sie sehr empfindlich und werden durch sie rasch getötet. Eine Sporenbildung konnte bei ihnen bisher nicht beobachtet werden.

Die Knöllchenbakterien verursachen in den künstlichen Nährsubstraten keine besonders tiefgehenden Umsetzungen. Es findet allerdings eine Säurebildung aus Kohlehydraten statt, wodurch die Kaseinfüllung in Milchkulturen dieser Bakterien bedingt zu sein scheint. Indolbildung fehlt in den Zuchten dieser Mikroben. Zugesetzter Salpeter wird in geringer Menge bis zu Nitrit reduziert. Eine Ammoniakbildung ist nicht festzustellen.

Die Knöllchenbakterien gehören zu den aëroben Organismen; die Kardinalpunkte für die Sauerstoffspannung sind noch nicht untersucht.

Man hat nun auch die Bakterioidenbildungen außerhalb der Leguminose in Reinkulturen untersucht und eine Reihe von Stoffen gefunden, die dieselbe in mehr oder minder ausgesprochener Weise hervorzurufen befähigt sein sollen. Auch die in Kulturen sich anhäufenden eigenen Stoffwechselprodukte führen zu Gestaltsveränderungen, die an Bakte-

rioiden erinnern. Ob diese durch Zusätze von organischen Säuren, Asparagin, Pepton usw. in Verbindung mit Traubenzucker und anderen Kohlehydraten, dann Auszügen aus Leguminosensamen usw. hervorgerufenen Formen in allen Punkten echten Bakterioiden entsprechen, mag dahingestellt bleiben. Formveränderungen ließen sich damit aber sicher erzielen, die bei Verwendung gleicher Stoffe auf Knöllchenbakterien aus verschiedenen Leguminosen verschieden ausfielen. So hat es sich auch gezeigt, daß die Form der aus Sojabohnen gezüchteten Bakterien durch Lävulose bedeutend stärker verändert wurde als diejenigen der Erbsenbakterien, was für einen Artunterschied beider Bakterienarten spricht.

In der Figur 117 sind Formen abgebildet, die die aus den Knöllchen der Sojabohne gezüchteten Bakterien in Lösungen ver-

Fig. 117.

schiedener Stoffe, wie Dextrose allein und in Verbindung mit Asparagin, Kaliumphosphat oder Salpeter in verschiedenen Konzentrationen nach bestimmter Zeit aufweisen. Auffallend ist hier besonders die eigenartige Plasmadifferenzierung neben den Auftreibungen oder „Aussprossungen".

Die neuesten Untersuchungen von Zipfel haben nun ergeben, daß es gelingt, auch auf festen Nährsubstraten wachstumsfähige Bakterioiden aus der Bakterienform von Leguminosen zu züchten. Dabei scheinen die vorher genannten Stoffe allerdings recht bedeutungslos zu sein. Nur einige wenige, niedere Abbauprodukte der Eiweißkörper sind dazu aber besonders befähigt. In erster Linie bewirkt das **Koffein**, in einer

Menge von 0,2—0,4% dem Leguminosenagar oder der Gelatine zugesetzt, die Bakterioidenbildung. Das Wachstum der darauf verimpften Bakterien verlief allerdings sehr langsam. Man findet aber nach einiger Zeit fast ausschließlich verzweigte, typische Bakterioidenformen, die, auf koffeinfreie Nährböden übertragen, sich als normale Stäbchen weiterentwickelten.

Zwei andere Methylxanthine, Theobromin und Theophyllin, brachten in kleinen Dosen keine Bakterioidenbildung hervor, während sie in größeren Gaben jedwedes Wachstum unterdrückten.

Die Artenfrage ist bei den Knöllchenbakterien noch keineswegs gelöst. Man schied dieselben in zwei Gruppen, die man als Rhizobium radicicola und Rhizobium Beijerinckii bezeichnete.

Rhizobium radicicola umfaßt nach Hiltner und Störmer die Knöllchenbakterien von Pisum, Lathyrus, Vicia, Phaseolus, Trifolium, Medicago, Anthyllis, Onobrychis und Robinia. Es soll eine wechselseitige Verimpfung der von einer Art stammenden Bakterien auf die anderen Arten mit Erfolg durchgeführt worden sein und überdies große morphologische Übereinstimmung der aus den genannten Leguminosen gezüchteten Mikroben vorliegen.

Rhizobium Beijerinckii schließt die aus Lupinus, Ornithopus und Soja kultivierten Knöllchenbakterien ein. Eine erfolgreiche Infektion der normal von Rhizobium radicicola bewohnten, oben genannten Leguminosen soll mit Rhizobium Beijerinckii ebensowenig gelingen wie der umgekehrte Versuch. Maaßen und Müller wollen eine noch größere Spezifizität der Knöllchenbakterien festgestellt haben und trennen sie in fünf Gruppen.

Weiters veröffentlichte Zipfel eingehende Versuche der Artbestimmung unter Zuhilfenahme von Agglutininreaktionen. Wenn man Tieren eine Bakterienart in einer Dosis unter die Haut spritzt, die sie ohne Schaden vertragen, so entstehen im Tierkörper unter anderen spezifisch wirkende Stoffe, welche auf die Zellen derjenigen Bakterienart zusammenballend oder agglutinierend wirken, die zur Impfung benutzt wurde. Man bezeichnet diese Stoffe, die sich besonders nach wiederholten Einspritzungen in erheblicher Menge im Blutserum ansammeln, als Agglutinine. Dieselben wirken also artspezifisch und nur in geringerem Grade auf artverwandte Mikroorganismen. Deshalb sind diese Reaktionen für die Entscheidung der Artzugehörigkeit von großem Werte.

Wenn nun Zipfel Kaninchen mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien der Erbse durch Einspritzungen unter die Haut vorbehandelte, so erhielt das Kaninchenblutserum im hohen Grade die Fähigkeit, auch noch in großen Verdünnungen die aufgeschwemmten Knöllchenbakterien der Erbse zu verkleben oder zu agglutinieren. Die folgende Zusammenstellung gibt die wichtigsten Versuchsresultate wieder. Das + Zeichen bedeutet, daß in der angegebenen Verdünnung nach 24 Stunden ausgiebige Agglutination, also grobe Zusammenballung der Bakterien und daher Klärung der Emulsion eingetreten war. Bei allen Versuchen wurde 1 ccm Kulturaufschwemmung mit 1 Tropfen des entsprechend verdünnten Serums (1 : 100, 1 : 1000, 1 : 4000 und 1 : 10000) versetzt. Die Kontrollversuche mit gleich verdünntem Serum von nicht vorbehandelten Kaninchen fielen sämtlich negativ aus, geben also keine Agglutination.

1 ccm Aufschwemmung der rein gezüchteten Bakterienart aus	1 Tropfen des mit Chlornatriumlösung verdünnten Blutserums des mit Erbsenbakterien vorbehandelten Tieres in dem Verhältnis von			
	1 : 100	1 : 1000	1 : 4000	1 : 10000
Pisum sativum	+	+	+	+
Vicia faba . .	—	—	—	—
Phaseolus vulgaris	+	+	+	+
Trifoluim pratense	—	—	—	—

Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß das Serum des mit Knöllchenbakterien der Erbse vorbehandelten Kaninchens selbst noch in einer Verdünnung von 1 : 10000 die Knöllchenbakterien der Erbse und diejenigen der Bohne zu agglutinieren vermag, während es aber auch in viel höheren Konzentrationen auf die Knöllchenbakterien der Pferdebohne und des Rotklees überhaupt nicht wirkt. Dies spricht sehr für die Identität der Knöllchenbakterien der Erbse und Bohne. Nach diesen erst auf wenige Knöllchenbakterien ausgedehnten Versuchen dürfte es sich doch herausstellen, daß für die Knöllchenbildung bei den verschiedenen Leguminosen mindestens mehrere Arten von Bakterien in Frage kommen, die zwar in morphologischer Hinsicht große Ähnlichkeit aufweisen.

Wir haben gehört, wie die Knöllchen der Leguminosen entstehen und welche Bakterien dabei beteiligt sind. Nunmehr müssen wir uns der Tätigkeit der Bakterioiden in den Knöllchen und dem Verhältnis zwischen der Pflanze und den Knöllchenbewohnern zuwenden.

Daß die Leguminosen nur mit Hilfe ihrer Knöllchen den elementaren Stickstoff zu assimilieren vermögen, kann mit voller Berechtigung nach allen einwandfreien Versuchen als sichergestellt gelten. Ebenfalls Tatsache ist es, daß diese Stickstoffassimilation über die Bakterioiden hinüber vor sich geht; dieselben sind ja auch massenhaft in den Knöllchen vorhanden. Die Einzelheiten des Vorganges selbst kennen wir aber heute noch nicht und können über dieselben nur mehr oder minder wahrscheinliche Vermutungen äußern. Sicher wissen wir nur, daß der Beginn der Stickstoffassimilation bei den Leguminosen mit der Umwandlung der Knöllchenbakterien in die Bakterioiden zeitlich zusammenfällt und die Stickstoffaufnahme durch die Pflanze nicht von einem Zerfall der Bakterioiden begleitet ist. Die verschwindend kleine Stickstoffmenge der zerfallenen und etwa resorbierten Bakterien könnte auch niemals zu dem großen Stickstoffgewinn der Pflanze führen, der tatsächlich zu verzeichnen ist. Der Vorgang der Assimilation des elementaren Stickstoffes muß so gedacht werden, daß nur die Bakterioiden in den Knöllchen denselben aufnehmen und in noch unbekannte Stickstoffverbindungen umwandeln, die der Pflanze in gelöster Form als Nahrung dienen. Die Bakterioiden müssen wir uns als Zellen vorstellen, die sich in dem Knöllchen allerdings nicht zu vermehren vermögen, aber außerordentlich kräftig freien Stickstoff aufnehmen, daraus ihren eigenen Bedarf für das Leben decken und den Rest in der Pflanze zugängliche Stickstoffverbindungen umsetzen.

Ein großer Teil der Forscher will in dem Verhältnis der Leguminose zu den Bakterioiden und umgekehrt ein typisches Beispiel der Symbiose erblicken. Wenn wir unter Symbiose im weitesten Sinne des Wortes überhaupt ein Zusammenleben zweier oder mehrerer Organismen auffassen, hat es allerdings hier eine Berechtigung. Dann müssen wir aber auch nach dem Vorgange von Pfeffer den Parasitismus usw. als Symbiose ansehen. Die Knöllchenbakterien verhalten sich bei der Infektion der jungen Leguminose wie echte Parasiten. Nachdem sie wahrscheinlich mit Hilfe eines besonderen, vielleicht enzymartigen Stoffes die Membran der Scheitelzelle des Wurzelhaares gelöst haben, dringen sie ein. Der nun einstürmenden Bakterien sucht sich die Pflanze mit allen Mitteln zu erwehren. Bei jungen kräftigen Pflanzen kommen die Bakterien in eine schlimme Lage, denn bevor sie sich noch in die anscheinend widerstandsfähigeren Bakterioiden umgeformt haben, verfallen sie der Resorption. Dies trifft besonders dann zu, wenn die Knöllchenbakterien der betreffenden Leguminose nicht genügend angepaßt sind. In der Anpassung der Knöllchenbakterien können wir mit gutem Grund eine verschieden stark ausgebildete Widerstandsfähigkeit oder Empfindlichkeit der Bakterien selbst gegen die pflanzlichen Schutzstoffe erblicken. Die Größe dieser Anpassung gibt uns auch ein Maß ihrer Virulenz. Nach Hiltner kann man den Virulenzgrad folgendermaßen abstufen:

1. Die Bakterien vermögen überhaupt nicht in die Wurzel einzudringen. In diesem Falle dürfte der für die betreffende Leguminose anscheinend spezifische Angriffsstoff der Knöllchenbakterienart fehlen.

2. Die Bakterien vermögen zwar in das Wurzelhaar einzudringen, verfallen jedoch bei der Ausbildung des Infektionsschlauches in kürzester Zeit der Aufsaugung durch die Pflanze. Dabei kommt es mitunter zu geringen Wurzelanschwellungen, die aber alsbald wieder verschwinden.

3. Den Bakterien gelingt die Infektion und die Knöllchenbildung vollkommen, doch vor ihrer Umformung in die Bakterioiden werden sie von der Pflanze resorbiert. Die Wurzel behält in diesem Falle die unwirksamen Knöllchen, welche an Lupinen und anderen Leguminosen beobachtet wurden.

4. Die Bakterien wandern ein, bilden die Knöllchen und wandeln sich in ihnen in die Bakterioiden um. Es ist dies sozusagen das normale Vorkommnis.

5. Die Umwandlung der eingewanderten und nun in den Knöllchen sitzenden Bakterien erfolgt nur sehr langsam, wodurch die Pflanze eine länger andauernde Schädigung erfährt.

6. Die Bakterien bleiben dauernd Parasiten der Pflanzen und schädigen sie fortwährend, weil sie sich nicht in den Zustand der avirulenten Bakterioiden begeben. Es kommt so zu einer Bakterienüberwucherung der Wurzel.

Aus alledem entnehmen wir, daß es sich zumindest bei der Infektion um ein Kampfverhältnis zwischen Leguminose und Bakterium handelt, das dauernd werden kann oder in dem die Pflanze oder der Mikroorganismus Sieger wird. Außerdem wird der Mikroorganismenart anscheinend in der Wurzel kein besonderer Vorteil von Seite der Pflanze gewährt, und normalerweise zieht letztere aus dem Zusammenleben den Nutzen. Man wollte denn behaupten, daß der Bakterioidenzustand ein für die Art unbedingt notwendiges Entwicklungsstadium sei, das sie zur Erhaltung

derselben durchlaufen und dazu in das Knöllchen gelangen muß. Diese Möglichkeit wurde aber experimentell nicht geprüft.

Auch an den Wurzeln von Nichtleguminosen hat man vielfach Knöllchenbildungen beobachtet. Besonders die Erle zeigt solche in großer Anzahl und von beträchtlicher Größe. In Figur 118 ist ein Stück von einer Erlenwurzel in halber natürlicher Größe photographiert. Man sieht hier gut die zahlreichen, maulbeerförmigen Anschwellungen. Diese Erlenknöllchen entstehen ebenfalls auf eine Pilzinfektion hin, unter denen anfangs die Pflanze kurze Zeit krankt. Der Pilz selbst ist noch keineswegs genügend erforscht, da unter den Untersuchern sogar noch Meinungsverschiedenheiten darüber herrschen, ob derselbe den höheren Pilzen zuzurechnen ist oder den Bakterien. Die Fähigkeit der Stickstoffsammlung durch Alnus mit Hilfe der Wurzelknöllchen ist experimentell einwandfrei erwiesen. Selbst in der Natur scheinen die Erlen eine wichtige Rolle bei der Bindung des elementaren Stickstoffes zu spielen.

Fig. 118.

Knöllchen fand man noch an den Wurzeln zahlreicher anderer Pflanzen, wie Elaeagnus angustifolius (Oelweide), Cycadeen u. a.

Eine ständige innere oder äußere Verpilzung von Pflanzenwurzeln ohne Ausbildung von knöllchenartigen Anschwellungen beobachtet man häufig und bringt auch hier den Pilz mit der Ernährung der betreffenden Pflanze in Verbindung. Solche Pflanzen mit „Pilzwurzeln“ oder **Mykorrhizen** sind die Orchideen, der Fichtenspargel, die Kiefer und andere. Der Pilz kann nun außen die Wurzel umspinnen und nur in die obersten Schichten derselben eindringen oder das Innere der Wurzel mit seinen Fäden erfüllen. Im ersteren Falle spricht man von ektotropher Mykorrhiza, in letzterem von endotropher Mykorrhiza. Diese finden sich in erster Linie bei den Orchideen. Die Untersuchungen der Mykorrhizen haben nun ergeben, daß die Pilze tatsächlich für die Gesamternährung der betreffenden Pflanzen von entscheidender Bedeutung sind und in vielen Fällen auch die Fähigkeit besitzen, elementaren Stickstoff in assimilationsfähiger Form der Pflanze zuzuführen.

In der folgenden Figur 119 ist die Photographie des Wurzelstockes von Neottia Nidus avis in annähernd natürlicher Größe wiedergegeben. Die einzelnen dicken und stumpfen Wurzeln sind im Innern von Pilzen durchsetzt. Wir haben also eine endotrophe Mykorrhiza vor uns. In einem Querschnitt durch eine solche Pilzwurzel sehen wir eine

Menge von polygonalen Zellen, die von einem dichten Flechtwerk der Hyphen des betreffenden Pilzes erfüllt sind, während wieder andere Zellen den Pilz in zusammengebackenem und verquollenem Zustand erhalten. Wieder in anderen Zellen sieht man vom Pilzgeflecht überhaupt nicht mehr viel. Figur 120 zeigt nun einen solchen Schnitt durch die Neottia-Wurzel bei stärkerer Vergrößerung. In dieser Figur sehen wir in einigen Zellen (*a*) die Hyphengeflechte in noch gut erhaltenem Zustande, während andere Zellen (*b*) dieselben als Klumpen in Zersetzung begriffen enthalten. Allem Anschein nach wird der Pilz von der Pflanze resorbiert

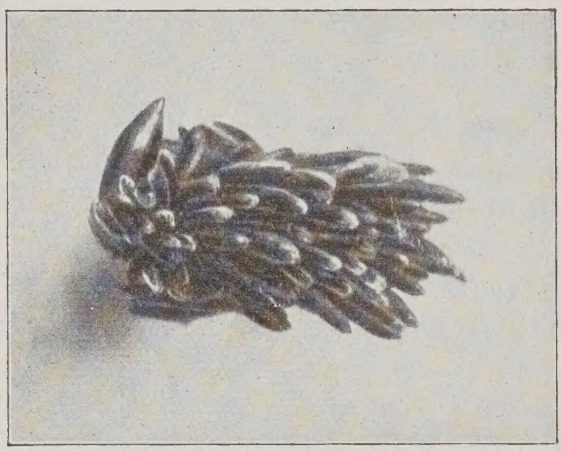


Fig. 119.

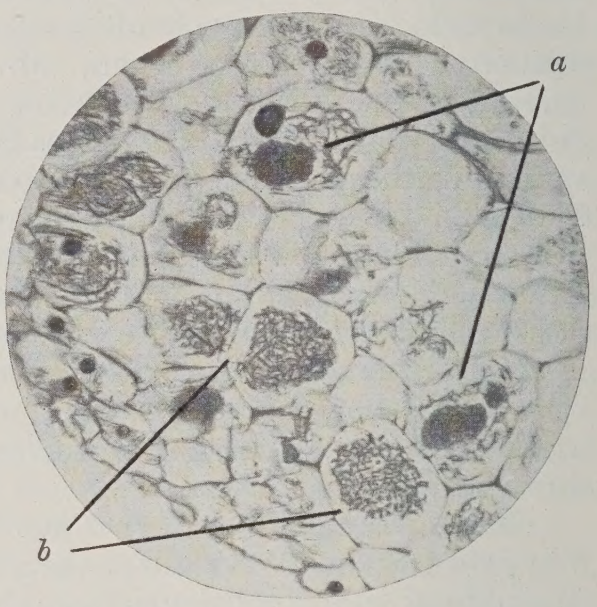


Fig. 120.

und liefert so die Nahrung. Der Orchideenpilz ist ein höherer Pilz und hat mit den Bakterien nichts zu tun. Das gleiche gilt auch für die übrigen Mykorrhizen, die ebenfalls durch höhere Pilze hervorgerufen werden.

2. Stickstoffbindung durch freilebende Bakterien.

Eine große Menge elementaren Stickstoffes wird auch durch frei im Boden lebende Mikroorganismen gebunden und in Mikroorganismenleibessubstanz und wahrscheinlich auch andere stickstoffhaltige Verbindungen verwandelt. Die Verbreitung solcher frei lebenden stickstoffbindenden Bakterienarten ist enorm. Wir finden sie in jeder Bodenprobe, sei es von bebautem Ackerland oder Sanddünen, einerlei aus welchem Erdteil. Man hat anaërobe und aërobe, sporenbildende und sporenlose Bakterienarten als kräftig Stickstoff bindend erkannt. Es würde zu weit führen, hier alle beschriebenen Formen aufzuzählen, weshalb nur die wichtigsten Typen kurz skizziert seien.

Im Laufe der Zeit wurde unter verschiedenen Namen eine Reihe von stickstoffbindenden Clostridien beschrieben, die samt und sonders Glykogen und Jogen speichern und auch in ihren sonstigen biologischen und morphologischen Eigenschaften nur so wenig voneinander abweichen, so daß wir dieselben nach den verdienstvollen Untersuchungen Bredemanns und seiner Mitarbeiter mit gutem Recht als Varietäten einer

Spezies, des Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann auffassen dürfen. Wir haben die Morphologie desselben zum größten Teil schon früher kennen gelernt, weshalb hier nur dessen Biologie noch ergänzend kurz behandelt werden soll. Die Amylobakterstämme begnügen sich mit sehr einfachen Stickstoffquellen in verschwindend kleiner Menge, gedeihen aber auch mit komplizierten organischen Stickstoffverbindungen. Unter bestimmten Bedingungen und bei der Darreichung einer passenden Kohlenstoffquelle entwickeln sie sich auch in einer stickstofffreien Nährlösung, wenn ihnen elementarer Stickstoff zur Verfügung steht. Wie wir schon gesehen haben, wachsen sie nur in einer außerordentlich niederen Sauerstoffspannung, obgleich es auch gelingt, sie im offenen Kolben zu züchten, wenn die Flüssigkeitsschicht nicht allzu dünn und die Einsaat groß ist. Für sie sind gallertige oder feste Nährsubstrate günstiger als flüssige. Ihr Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei etwa 30° C; sie gedeihen aber bei Zimmertemperatur auch noch ausgezeichnet. In zuckerhaltigen Nährsubstraten zersetzen sie Dextrose usw. unter heftigen Gärerscheinungen, indem sie an gasförmigen Produkten reichlich Kohlendioxyd und Wasserstoff entwickeln, an flüchtigen Säuren hauptsächlich Buttersäure und daneben in mehr oder minder großen Mengen Propion-, Essig- und Ameisensäure, was bis zu einem gewissen Grade vom Ausgangsmaterial abhängig ist. Es entsteht bei der Amylobaktergärung auch eine Reihe von Alkoholen, von denen nach Bredemann vornehmlich in Betracht kommen können: Äthylalkohol, Isopropylalkohol, primärer Propylalkohol, primärer Isobutylalkohol, primärer Normalbutylalkohol und außerdem noch einige Pentylalkohole vom Siedepunkt 102,5—137° C. Nach denselben eingehenden und sehr lesenswerten Untersuchungen soll übrigens zwischen der Größe der Stickstoffbindung und der vergorenen Zuckermenge und der daraus hervorgehenden Menge flüchtiger Säuren keine bestimmte Beziehung bestehen.

Trotzdem müssen bei der Stickstoffbindung der Bakterienart genügende Mengen von Kohlehydrat zur Verfügung stehen. Häufig kommt neben der Amylobakterart eine Begleitbakterie vor, die vielleicht in der freien Natur die für die Stickstoffbindung bzw. ihren Erregern passende Kohlenstoffquelle aus schwer zugänglichen Kohlenhydraten herstellt. So haben die Pringsheimschen Versuche ergeben, daß das Clostridium americanum, ebenfalls eine Amylobakterart, in Kulturen mit Zellulose zersetzenden Bakterien Gärungsprodukte der letzteren als Kohlenstoffquelle benutzt und dabei kräftig Stickstoff bindet.

Speziell die Fähigkeit der Stickstoffbindung scheint eine Eigenschaft zu sein, die in der künstlichen Kultur in kurzer oder längerer Zeit erheblich geschädigt wird, während die Sporen dieser Bakterienarten selbst nach langer Ruhe Vegetationsstäbchen mit ungeschwächten stickstoffbindenden Eigenschaften ergeben. Die verminderte oder gänzlich verloren gegangene Stickstoffbindungsfähigkeit kann bei den Amylobakteren nach den Untersuchungen von Bredemann durch „Erdpassagen", also Züchtungen in Erde oder auch in Extrakten derselben, wieder rasch regeneriert werden. Das gleiche gilt auch für die nun zu besprechende Gruppe „Bacillus asterosporus".

Als Typus einer anderen Gruppe von stickstoffbindenden Bakterienarten kann der schon öfter genannte Bacillus asterosporus

gelten, der ebenfalls in der oberen Erdschicht weit verbreitet vorkommt. Es handelt sich hier um fakultativ anaërobe Bakterienarten, zu denen auch Granulobacter polymyxa, reptans und sphäricum zu rechnen sind. Wir kennen die Morphologie von früheren Besprechungen her ebenfalls schon ziemlich genau, wenigstens die wichtigsten Daten daraus. Auch die Vertreter der Asterosporusgruppe sind sehr genügsame Bakterienarten, die selbst in der stickstofffreien Nährlösung von Winogradsky gedeihen, die nur Dikaliumphosphat, Magnesiumsulfat, Chlornatrium, Mangan- und Eisensulfat neben einer passenden Kohlenstoffquelle in sehr geringer Menge enthält. Sie sind gasbildende, stark gärende Bakterienarten, die beispielsweise aus Dextrose oder Rohrzucker Kohlensäure und Wasserstoff, dann flüchtige Säuren, vornehmlich Essigsäure, etwas Ameisensäure und wahrscheinlich geringe Mengen einer Säure von hohem Molekulargewicht, und noch Körper aldehydartiger Natur bilden.

Eine dritte Gruppe von weit verbreiteten Bakterienarten bilden die zahlreichen „Azotobakterarten", von denen Azotobacter chroococcum, von Beijerinck schon genauestens studiert, wohl am intensivsten Stickstoff bindet. Die Zellen desselben sind sehr groß und haben eine elipsoidische bis kugelförmige Gestalt mit einem Durchmesser bis zu 6 μ. Wenn sie schwärmen, bewegen sie sich mit einer Geißel. Sie gedeihen am besten mit geringen Mengen von einfachen Stickstoffquellen in Verbindung mit besonderen Kohlenstoffquellen. Als letztere erweisen sich sehr günstig Mannit, Rohrzucker und Traubenzucker, dann Arabinose und Xylose, die aus Pektinen immer in großen Mengen in die Erde kommen. Am wenigsten brauchbar sind die Salze organischer Säuren. Auch Spaltungsprodukte der Zellulose scheinen sehr zugängliche Kohlenstoffquellen bei kräftiger Stickstoffbindung zu sein, da letztere dann besonders ausgiebig erfolgt, wenn Azotobacter in Mischkulturen mit Zellulosezersetzern bei Gegenwart von Zellulose gezüchtet wird.

Auch die Humusstoffe befördern die Stickstoffbindung ganz hervorragend. In dieser Hinsicht erweisen sich die einzelnen Humate aber sehr verschieden. Am besten wirken die natürlichen des Bodens. Daneben muß aber noch eine besondere Kohlenstoffquelle vorhanden sein, da die Humate anscheinend von der Bakterienart gar nicht angegriffen werden, zumal sie weder ihren Kohlenstoff- noch ihren Stickstoffbedarf daraus zu decken vermag. Wie diese Stoffe wirken, ist derzeit nicht bekannt. Wie bei den vorgenannten Gruppen stickstoffbindender Bakterien Zusätze von Erde oder Erdextrakten die Stickstoffausbeute fördern, so geschieht es auch hier. Aus der folgenden kleinen Zusammenstellung (s. Tabelle S. 311), die verkürzt unter Berechnung von abgerundeten Mittelwerten nach den Untersuchungen von Krzemieniewski wiedergegeben ist, kann man den Einfluß der Erd- und Humuszusätze deutlich ersehen.

Azotobacter ist eine luftbedürftige Bakterienart, deren Temperaturoptimum um 28° C liegt. Eine eigentliche Sporenbildung wurde bei derselben nicht beobachtet, doch umhüllen sich meist mehrere Zellen mit einer Art besonderer Kapsel, indem die äußeren Partien der ohnehin immer schleimigen Zellhaut fester werden. Es scheint, daß sich die Tochterzellen nach der Teilung nicht weiter voneinander entfernen

Impfmaterial, Kohlenstoffquelle und Zusätze	N-Gewinn für 1 g verbrauchte Kohlenstoffquelle mg:
Reinkultur von Azotobacter + pasteurisierte Erde + Mannit . .	10,3
Kahmhaut in Mannitnährlösung	8,1
Reinkultur von Azotobacter + sterilisierte Erde + Mannit . . .	5,9
„ „ „ + „ „ + Dextrose . .	7,4
„ „ „ + Mannit	0,4
„ „ „ + Dextrose	2,0
„ „ „ + Mannit + Kaliumhumat	10,1
„ „ „ + „ + Natriumhumat	10,9
„ „ „ + „ + Humat aus Zucker . .	2,9
„ „ „ + Dextrose + Kaliumhumat	12,0
„ „ „ + „ + Kalziumhumat. . . .	9,1

und so Pakete bilden. In denselben halten die Zellen das Austrocknen gut aus und bleiben lange lebensfähig. Man findet dieses Entwicklungsstadium in den älteren, bereits braun gewordenen Kolonien dieser Bakterienart. Von Beijerinck und Van Delden und anderen wurden noch mehrere Azotobacterarten aus verschiedenen Erdproben und aus Kanalwasser gezüchtet, die ebenfalls stickstoffbindende Eigenschaften besitzen. So ist zu nennen Azotobacter agile Beijerinck-Van Delden, welches unter geeigneten Züchtungsbedingungen einen wasserlöslichen, grün fluoreszierenden Farbstoff erzeugt; dann Azotobacter vinelandii Lipman, Azotobacter vitreum Löhnis und Westermann usw.

Außer den bereits genannten drei Bakteriengruppen kommen für die Stickstoffbindung noch zahlreiche andere Bakterienarten in Frage, auf die wir nicht im besonderen eingehen können. Es sei nur kurz an Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae Friedländer" erinnert, die ebenfalls kräftig Stickstoff fixieren. Hierher gehören auch die Vertreter der Gattung Radiobacter Beijerincks. Außerdem gibt es eine Reihe von Bakterienarten, die gelegentlich und unter besonderen Züchtungsverhältnissen elementaren Stickstoff assimilieren, wie z. B. ein Stamm von Pseudomonas pyocyanea bei der Kultur in sehr stickstoffarmen Nährlösungen mit Salzen organischer Säuren Stickstoff fixierte.

Nach den Untersuchungen von Löhnis und Pillai haben zahlreiche Kugel- und Stäbchenbakterien in einem Zeitraum von drei Wochen in 100 ccm Bodenextraktzuchten mit 1% Mannit oder Traubenzucker mitunter nicht unerhebliche Stickstoffernten ergeben, wie aus der unten stehenden Zusammenstellung hervorgeht:

Micrococcus sulfureus . .	2,8—3,0 mg
Bacillus prodigiosus . . .	0,7—1,8 mg
Bacterium turcosum . . .	0,3—1,6 mg
Bacterium chrysgloea	1,4 mg
Bacterium tartaricum	0,3 mg
Bacterium lipsiense	0,2 mg

In der freien Natur dürften wohl immer einige der genannten Bakterien bei der Stickstoffbindung gleichzeitig tätig sein und durch die Mitarbeit

anderer Mikroorganismen dabei günstig beeinflußt werden. Dies gilt vornehmlich für die anaëroben Stickstoffbinder, denen die sauerstoffbedürftigen Mikroben anaërobe Bedingungen herstellen.

Außer Bakterien spielt bei der Stickstoffbindung aber noch eine Reihe anderer Organismen eine gewiß nicht zu unterschätzende Rolle. Dieselben sollen in ihrer Tätigkeit hier nur kurz erwähnt werden.

Da sind vor allem Hyphomyzeten und Sproßpilze zu nennen, die in zahlreichen Versuchen ansehnliche Mengen von Stickstoff zu binden vermochten. Auch unsere trivialen Schimmelpilze Aspergillus niger und Penicillium glaucum sind in geringem Grade dazu befähigt. Die meisten auf Pflanzen sich ansiedelnden Pilze vermögen auf kohlehydratreicher Unterlage ohne besondere Stickstoffquelle zu leben und assimilieren dabei den elementaren Stickstoff der Atmosphäre. Von Kohlehydraten verarbeiten sie dabei außer Traubenzucker auch Zellulose gut und binden pro Gramm Dextrose bis zu 8,9 mg Stickstoff. Interessant ist es, daß gerade sie ihr Temperaturoptimum niedrig haben, denn es liegt zwischen 0 und 10° C. In der Natur müssen wir ihnen besonders in den kälteren Jahreszeiten eine bedeutsame Rolle für die Stickstoffbindung zuschreiben, da wir gesehen haben, daß die dafür besonders in Betracht kommenden Bakterienarten viel höhere Temperaturoptima haben. Auch verschiedene Humuspilze binden kräftig Stickstoff, da sich bei ihnen Ernten bis zu 22 mg auf 1 g Traubenzucker ergeben haben.

Den meisten Algen soll nach den neueren Untersuchungen, die mit Reinkulturen von einem Cystococcus, dann von Stichococcus, Chlorella und Chlorothecium angestellt worden waren, jede Fähigkeit der Stickstoffbindung mangeln. Erst in Verbindung mit gleichzeitig anwesenden stickstoffbindenden Bakterienarten sollen sie die Tätigkeit derselben dadurch fördern, daß sie ihnen entsprechende Kohlehydrate liefern (Kossowitsch). Dafür spricht auch der Umstand, daß sich die Belichtung der obersten Erdschichten für die Ausbeute an atmosphärischem Stickstoff jedenfalls günstig erweist. Höchstens einige blaugrüne Algen oder Cyanophyceen, wie Anabaena und Nostoc, assimilieren im Lichte auch elementaren Stickstoff, wofür auch der Umstand spricht, daß sich gerade diese Algen bei der Herstellung von fruchtbarem Erdreich auf Neuland zuerst zu beteiligen pflegen.

Daß die Bindung des elementaren Stickstoffes im allgemeinen für die Landwirtschaft von der größten Bedeutung ist, steht heute fest. Den größeren Stickstoffertrag liefern wohl die Leguminosen; dieselben ergaben nach angestellten Berechnungen etwa den fünf- bis zehnfachen Gewinn gegenüber dem durch die freilebenden, stickstoffbindenden Organismen geschaffenen Ertrag. Im Haushalte der Natur unterhalten die stickstoffbindenden Mikroben in erster Linie den ununterbrochenen Kreislauf des Stickstoffes, denn die durch physikalische Kräfte, wie Elektrizität, demselben zugeführten Mengen elementaren Stickstoffes sind viel zu gering, um den Bedarf auch nur annähernd zu decken.

F. Bakterien der Milch und Milchprodukte.

1. Menge und allgemeine Charakteristik der Bakterien der Kuhmilch.

Die Bakterien der Milch und ihre Tätigkeit in derselben haben bei der großen Wichtigkeit dieses Nahrungsmittels ein außerordentlich eingehendes Studium erfahren, das zu sehr bedeutsamen Ergebnissen für die Behandlung derselben im Großbetriebe und für die Herstellung der verschiedenen Milchprodukte führte.

Wir wollen uns zunächst mit den Bakterien der Milch in bezug auf ihre **Menge** und die Beeinflussung derselben kurz befassen. Alle Untersuchungen, die an gewöhnlicher Marktmilch über den Bakteriengehalt derselben angestellt worden waren, haben ergeben, daß derselbe im allgemeinen sehr groß ist. Die in solcher Milch vorhandenen Bakterien können nun entweder vom Euter her schon in der Milch vorhanden sein oder gelangen während des Prozesses des Melkens und nacher in dieselbe hinein.

Obwohl man früher der Meinung war, daß die Milch im Euter gesunder Tiere steril, also frei von lebenden Mikroorganismen sei, haben doch einwandfreie Versuche ergeben, daß nur in seltenen Fällen dies zutrifft. Gewöhnlich enthält die in den Zisternen des Euters angesammelte Milch bereits Bakterien, deren Zahl im Kubikzentimeter nor-

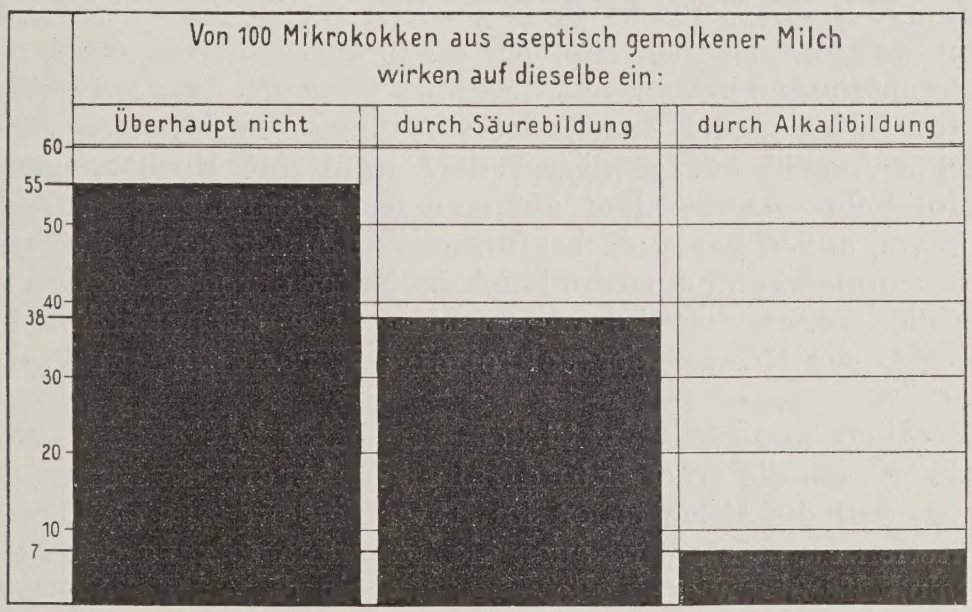


Fig. 121.

malerweise aber durchaus unter 500 bleibt. Dazu muß allerdings bemerkt werden, daß die ersten ausgespritzten Portionen trotz streng aseptischen Melkens reicher an Mikroben sind als die später abfließenden Mengen, was wohl mit einer Bakterienansammlung in den der Mündung zunächst liegenden Teilen der Zitzengänge zusammenhängt. Die aseptisch gewonnene Milch enthält nun überwiegend weiß und gelb wachsende Mikrokokken, die teils in mehr oder minder ausgesprochener Weise Leim verflüssigen. Pathogene Eigenschaften kommen ihnen aber nicht zu. Auch scheint die Mehrzahl von ihnen die Milch kaum irgendwie merkbar ungünstig zu beeinflussen, während ein Teil derselben Milch schwach säuert und nur sehr wenige dieselbe alkalisch machen. In der obenstehenden graphischen Darstellung der Figur 121 ist das Verhältnis

der Mikrokokken in ihrer Menge und Einflußnahme auf die Milch prozentisch nach den Untersuchungen von Esten und Mason wiedergegeben.

Daraus ist zu entnehmen, daß die meisten (55%) im Euter, also auch in der völlig aseptisch gemolkenen Milch, vorgefundenen Mikrokokken auf die Milch nachher überhaupt nicht weiter unmittelbar verändernd einwirken. 38% derselben vermögen durch schwache Säurebildung zu wirken und nur 7% durch Alkalierzeugung. Bei der weiteren Aufbewahrung kann der Charakter solcher Milch natürlich verschieden ausfallen, entsprechend den äußeren Bedingungen, durch welche die Vermehrung der einen oder anderen Bakterienart gefördert wird. Im allgemeinen erweist sich aber eine von gesunden Tieren stammende und nur mit den Euterbakterien infizierte Milch als sehr haltbar.

Die im Euter, bzw. in der aseptisch gewonnenen Milch noch vorhandenen Kettenkugelbakterien (Streptokokken) sind, gesunde Tiere vorausgesetzt, meist avirulent. Daneben findet man auch häufig die „kurzen Milchsäurebakterien", auf die später genauer eingegangen werden soll. Allerdings dürften Verwechslungen der echten Streptokokken mit letzteren oft vorkommen. Ab und zu werden in solcher Milch neben echten Streptokokken auch Traubenkugelbakterien (Staphylokokken) angetroffen. Beide Befunde sind insofern verdächtig, als durch diese Mikroben gelegentlich bei Eintritt ungünstiger Bedingungen für das Tier Euterentzündungen ausgelöst werden können. Längere Stäbchenbakterien fehlen in der Regel. Ist von ihnen allenfalls eine verschwindens kleine Anzahl nachzuweisen, darf wohl mit Recht angenommen werden, daß ihre Anwesenheit auf eine nach dem Melken stattgehabte Infektion von außen her zurückzuführen ist. Außer durch die genannten Bakteriengruppen kann aber die Milch im Euter durch Bakterien infiziert werden, die später dieselbe ungenießbar oder unappetitlich machen. Es sind dies die Erreger der schleimigen, ranzigen und bitteren Milch.

Wesentlich anders ist natürlich der bakteriologische Befund der Milch von Tieren, die an entzündlichen Eutererkrankungen leiden. Nicht nur, daß die Milch schon im Euter eine weitaus größere Anzahl von Bakterien aufweist, wird auch die Zusammensetzung der Flora eine andere sein. Es überwiegen allerdings auch in diesem Falle die Kugelbakterien, man findet aber reichlich Streptokokken, die längere oder kürzere Ketten bilden. Es handelt sich hier um virulente, pathogene Bakterien, die in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Euterentzündung stehen.

Es wäre natürlich außerordentlich wünschenswert, nur streng aseptisch die Milch zu gewinnen. In der großen Praxis ist dies aus vielerlei Gründen undurchführbar. Trotzdem kann durch peinliche Sauberkeit beim Melken und entsprechende Nachbehandlung und Aufbewahrung eine tadellose und einwandfreie Milch den Konsumenten geliefert werden.

Die Anzahl der in der Handelsmilch vorkommenden Bakterien ist von dem Alter der Milch, der Aufbewahrung und der Gewinnung derselben in erster Linie abhängig. Dieselbe schwankt zwischen einigen Hunderten und vielen Millionen im Kubikzentimeter.

Wenn man von einigen wenigen, besonders geleiteten Milchwirtschaften absieht, so ist die im Handel befindliche Marktmilch gewöhnlich sehr bakterienreich, ohne daß man aber berechtigt wäre, dieselbe als nicht einwandfrei zu bezeichnen. Bei der Durchsicht der zahllosen Angaben über den absoluten Keimgehalt der Handelsmilch stößt man mitunter auf außerordentlich hohe Zahlen, die sich bei frischer, für die Konsumenten bestimmter Milch mitunter in Hunderten von Millionen im Kubikzentimeter bewegen, während Zahlen unter 10—20000 schon zu den Seltenheiten zu rechnen sind. Als Durchschnittsmittel für gute Marktmilch kann ein Bakteriengehalt von 100000—200000 Mikroben im Kubikzentimeter gelten.

Von der Säuglingsmilch verlangt man allerdings einen bedeutend niedereren Keimgehalt. Dieselbe soll übrigens nur von absolut sicher gesunden Tieren unter größter Sorgfalt und Reinlichkeit gewonnen werden. Daß dadurch der Bakteriengehalt sehr heruntergedrückt werden kann, geht aus festgestellten Bakterienzahlen der Milch aus Versuchswirtschaften hervor, die unter wissenschaftlicher Beobachtung und Leitung stehen. So wurden in der Kuhhaltung Behrings im Kubikzentimeter aseptisch gewonnener Kuhmilch höchstens 200 Bakterien gefunden. Willem gewann bei Melkungen an nur wenigen Kühen eine Milch, die nach 24 Stunden nur 7—128 Mikroben im Kubikzentimeter enthielt. Jedenfalls ist derart bakterienarme Milch in der großen Praxis nicht erreichbar und auch die Forderung Behrings, daß die Säuglingsmilch nur höchstens 1000 Mikroorganismen im Kubikzentimeter enthalten solle, zu rigoros und im allgemeinen nicht ausführbar.

So wie bei allen Nahrungs- und Genußmitteln handelt es sich auch hier weniger um die Höhe der Keimzahl als vielmehr um die Bakterienarten, die sich gerade vorfinden.

Wie schon oben angedeutet, ist zur Gewinnung einer möglichst keimarmen Milch die Beobachtung einer Reihe von Vorsichtsmaßregeln unbedingt nötig. Vor allem ist auf eine reine und gute Haltung der Tiere selbst zu sehen und dann auch der Stall möglichst sauber, luftig und frei von unnötigem Unrat zu halten. Auch die Aufstapelung von Futtervorräten in demselben ist nicht zweckmäßig. Schon längere Zeit vor dem Melken ist jede Aufwirbelung von Staub durch starken Luftzug und starke Bewegungen der Tiere zu vermeiden. Außerdem ist der Stall möglichst fliegenfrei zu halten. Die Fütterung der Tiere mit Trockenfutter ist ebenfalls vor dem Melken zu vermeiden, überhaupt dürfen keine Futterreste in den Krippen ständig liegen bleiben. Das Futter des Tieres selbst darf nur in einer Beschaffenheit gereicht werden, die es ihm bekömmlich macht und Darmstörungen möglichst vermeidet, damit der Fäzes keine zu dünne Beschaffenheit aufweist und beim Abgeben nicht herumspritzt. Gerade die häufigsten, unangenehmen Milchinfektionen im Stall sind auf Kotteilchen, die in das Gemelke gelangen, zurückzuführen. Vor dem Melken soll das Euter mit Seife gründlich gereinigt und mit abgekochtem, sterilem Wasser gut gespült werden. Selbstverständlich muß der Melker selbst auch seine Hände gründlichst mechanisch mit Seife und Bürste reinigen. Sehr zweckmäßig ist es, wenn das Melkpersonal beim Melken reine Leinenmäntel trägt, damit von den auf den gewöhnlichen Kleidern haftenden, von den übrigen Stallverrichtungen herkommenden Mikroorganismen nichts in die frisch gemolkene Milch hineingelangt. Wenn die

Melkung mit zweckdienlichen Maschinen vorgenommen wird, ist die erhaltene Milch bei peinlichster Reinhaltung der Melkvorrichtung allerdings sehr keimarm. Das Handmelken liefert aber bei gewissenhafter und reinlicher Ausführung eine ebenso bakterienarme Milch.

Von sehr bedeutendem Einfluß auf den Bakteriengehalt der Milch sind auch die verwendeten Molkereigeräte. Auch hier wie überall gilt der Satz, daß die einfachsten Vorrichtungen die zweckmäßigsten sind. Man hat zur Gewinnung besonders bakterienarmer Milch komplizierte Melksiebe und Filtervorrichtungen konstuiert und dadurch nur das Gegenteil, eine sehr bakterienreiche Milch, erreicht. Am besten ist der Blecheimer mit einer Öffnung, deren Größe gerade ein bequemes Einmelken gestattet. Für alle Molkereigeräte, wie Melkeimer, Milchsiebe, Versendekannen, Flaschen und Kühler, gilt die Regel, sie nach jedem Gebrauche peinlichst zu reinigen und womöglich zu sterilisieren, da in Spuren zurückbleibende Milch in den anhängenden Wassertropfen die Ansiedlung und Vermehrung der Bakterien auf den Geräten sehr günstig beeinflußt. So können Massen von unliebsamen und Milch verderbenden Bakterien in dieselbe gelangen. Auf den Kühlern kann dann eine ausgiebige Infektion der Milch erfolgen, wenn die Luft sehr bakterienreich ist. Die Milchkühler sollen deshalb in besonderen Räumen weitab vom Stall oder staubenden Anlagen untergebracht sein.

Nach dieser eigentlich nicht mehr in den Rahmen unseres Stoffes gehörenden Abschweifung wollen wir den Einfluß der Aufbewahrungszeit und der Aufbewahrungstemperatur auf die Keimzahl der Milch kurz betrachten.

Im allgemeinen hat es sich ergeben, daß in den ersten zwanzig bis fünfundzwanzig Stunden unmittelbar nach dem Melken eine Abnahme der Bakterienzahl eintritt. Die Untersuchungen von Koning führten für verschiedene Milchproben zu folgenden Zahlen:

Stunden nach dem Melken:	Anzahl der Bakterien im ccm		Abnahme (−), bzw. Zunahme (+) der Keimzahlen in Prozent. von dem ersten Befund	
	Probe I	Probe II	Probe I	Probe II
Beim Einbringen, also 0—1 Stund.	107000	210000	—	—
2	nicht gez.	165000	—	− 21
6	96500	nicht gez.	− 11	—
18	120000	160000	+ 12	− 24
30	145000	580000	+ 35	+ 176
42	490000	840000	+ 358	+ 300
60	4300000	3241000	+ 3919	+ 1543
72	7100000	—	+ 6535	—

Es handelt sich hier nur um diejenigen Arten, die überhaupt in Gelatine sich zu vermehren vermögen, da die Zählung mit Hilfe von Gelatinplattenkulturen vorgenommen worden war. Die Milchproben hatten nach dem Melken bei der Übernahme im Laboratorium eine Temperatur von 21° C. Sie wurden dann rasch gekühlt und im Keller in verschlossenen Flaschen die angegebene Zeit hindurch bei einer Temperatur von 8—11° aufbewahrt.

Die Versuchsreihe zeigt, daß tatsächlich besonders in den ersten Stunden der Aufbewahrung eine nennenswerte Verminderung der Keim-

zahl eintritt. Man bezeichnet den Zeitraum, in der diese Abnahme erfolgt, als „bakterizide Phase der Milch". Noch auffallender ist das Zurückgehen der Keimzahlen bei der Kollostral- oder Biestmilch. Darunter versteht man die kurz nach der Geburt und einige Tage nachher vom Muttertier gebildete Milch.

Konnig hat nun die Bakterien in solcher Biestmilch von der Kuh nach verschiedenen Zeiten bei einer Aufbewahrung derselben in einer verschlossenen Flasche bei einer Temperatur von 9—10° C bestimmt. Danach ergeben sich dafür folgende Werte:

Anzahl der Bakterien im Kubikzentimeter		Abnahme (−), bzw. Zunahme (+) in Prozent vom ersten Befund
Kurz nach dem Melken beim Einbringen ins Laboratorium	25000	—
Bakterienzahl nach 6 Stunden	10500	− 58
„ „ 18 „	8000	− 68
„ „ 30 „	74700	+ 198
„ „ 42 „	304000	+ 1116
„ „ 54 „	2120000	+ 8380
„ „ 60 „	3400000	+ 13500

Wir entnehmen daraus ein sehr starkes Zurückgehen der Bakterienzahl in den ersten 18 Stunden nach dem Melken. Allerdings scheint diese besonders große, bakterizide Kraft der Kolostralmilch nach neueren Untersuchungen auf einem Trugschluß zu beruhen. Bub kommt nämlich bei seinen Versuchen mit Biestmilch zu dem Ergebnis, daß die starke Abnahme der Keimzahl auf ein Aneinanderkleben der Bakterien, zurückzuführen auf Agglutinine des Kolostrums, beruht. Dadurch ergibt natürlich die Zählung der auf den Platten angegangenen Kolonien eine unrichtige Grundlage für die Anzahl der in der Milch vorhanden gewesenen Bakterien. Die Zahlen sind dann zu niedrig und täuschen eine Keimabnahme vor, die in Wirklichkeit nicht besteht. Jedenfalls müssen die älteren Angaben über die besondere Bakterizidie der Kolostralmilch mit einiger Vorsicht aufgenommen werden. Noch anschaulicher wird der Verlauf der Schwankungen, wenn wir uns aus den oben angeführten Zahlen eine Kurve konstruieren, indem wir die Keimzahlen auf die Ordinate und die Stunden auf die Abszisse auftragen, wie es in der graphischen Darstellung der Figur 122 (Seite 318) geschehen ist.

Da ist der Rückgang in den ersten 2—18 Stunden und der darauffolgende rapide Anstieg erst besonders augenfällig. Die mittlere, voll ausgezogene Kurve, die sich auf die Probe I bezieht, und die gestrichelte der mit Biestmilch erhaltenen Zahlen gleichen sich in ihrem Verlauf sehr. Sobald man aber die Verminderung bzw. Vermehrung in Prozenten der absoluten Keimzahlen ausdrücken und danach eine Kurve konstruieren würde, dann sähe die Sache wesentlich anders aus. Die bedeutend tiefere Herabdrückung der Keimzahlen in den ersten Stunden geht auch aus den Prozentzahlen der Zu- und Abnahme hervor, die den obigen Zusammenstellungen beigefügt sind. Diese Zahlen zeigen uns, daß die Abnahme in den Milchproben I und II im besten Fall 24%

der zu Beginn des Versuches vorhandenen Keimzahl beträgt, während sie in der Biestmilch 68% ausmacht. Es werden in letzterer also rund dreimal so viel Bakterien vernichtet als in der gewöhnlichen Milch.

Die Keimabnahme ist nun nicht etwa auf eine ungünstige Beeinflussung aller in der Milch vorhandenen Bakterien zurückzuführen, sondern nach den zahlreichen Versuchen mit einzelnen Bakterienarten in einer Schädigung gewisser Spezies zu suchen, während andere unbeeinflußt bleiben und sich gleichmäßig weiter vermehren oder höchstens einen Wachstumsstillstand aufweisen. Bei den genannten Versuchen

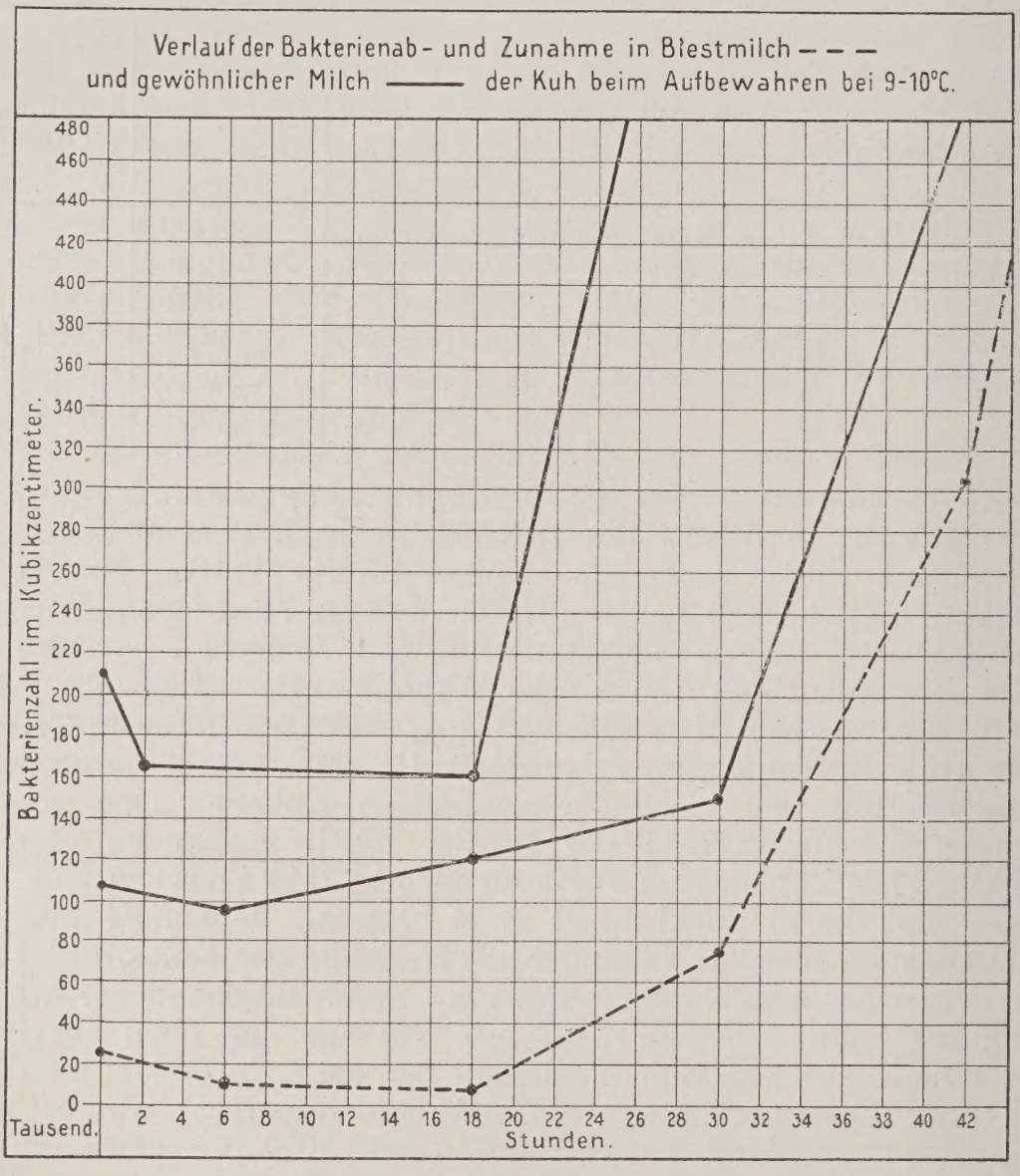


Fig. 122.

spielt natürlich auch die Temperatur während der Aufbewahrung eine hervorragende Rolle. Wählt man tiefere, zwischen 5 und 10° liegende Temperaturen, wie sie im Keller meist herrschen, dann tritt auch eine Wachstumshemmung ohne Rücksicht auf bakterizide Wirkungen ein. Es werden dadurch in erster Linie jene Bakterienarten getroffen, die ein höheres Temperaturoptimum und nur eine geringe Wachstumsbreite hinsichtlich der Temperatur haben. Kommt dann noch eine mindere Tauglichkeit der Milch als Nährsubstrat dazu, so können zahlreiche Bakterienarten schon ohne jede bakterizide Wirkung mitunter gänzlich aus-

geschaltet werden. Noch weiter geht dies, wenn außerdem die keimtötende Wirkung der Milch an sich hinzutritt.

Wenn man ganz allgemein in bezug auf die Temperatur die in der rohen Milch sich besonders vermehrenden Bakterienarten gruppieren will, kann man unter Anlehnung an Beijerinck mit Wolff zwei Floren unterscheiden:

1. Kryoflora bei Temperaturen von 5—20° C. Dieselbe besteht vornehmlich aus Mikrokokken, verflüssigenden kurzen Stäbchenbakterien und Fluoreszensarten.

2. Thermoflora bei Temperaturen von 20—37°. Dieselbe machen zwischen 20 und 30° vorzugsweise echte Milchsäurebakterien aus, während bei höheren Temperaturen noch Vertreter der Coli- und Aërogenes-Gruppe sich hinzugesellen.

Entsprechend der Hauptinfektionsquelle der Milch, welche die Stalluft und der Tierkot nach dem früher Gesagten abgeben, sind die Befunde über die **Bakterienarten**, die in der Marktmilch vornehmlich nachgewiesen werden. Man findet sporenbildende Arten und sporenlose, sauerstoffliebende und sauerstoffscheue. Es würde zu weit führen, sie hier alle beschreiben zu wollen. Es genügt, wenn wir die Hauptgruppen kurz erörtern, wobei wir von den schon genannten Euterbakterien hier absehen wollen.

Als Bewohner der frischen Milch sind zuerst „alkalibildende" Kurzstäbchen zu nennen. Es sind nach der Diagnose von Wolff streng aërobe, nicht sporenbildende, aus Laktose und Dextrose nicht gaserzeugende Stäbchenbakterien, die die Milch äußerlich unverändert lassen und Alkali und Riechstoffe erzeugen.

Weiter finden wir in der Milch häufig farbstoffbildende Stäbchenbakterien und solche, die besonders durch ihre große Resistenz gegen höhere Temperaturen auffallen, trotzdem sie nicht Sporen zu bilden vermögen. Außerdem enthält die Milch oft oder vielleicht meistens Vertreter aus der Proteus-Gruppe und andere Kurzstäbchen.

Die Milch beherbergt außerdem die verschiedenen Milchsäurebakterien, die man in mehrere Gruppen einordnen kann. Genannt seien vor allem die Gruppe des Bacterium Leichmanni (synonym mit Bacillus lactis acidi, Bacterium Güntheri, Bacillus lacticus, Streptococcus lactis) und diejenige der langen Milchsäurebakterien oder Laktobakterien (synonym mit Lactobacillus). Dazu kommt dann noch die Gruppe der Milchsäure erzeugenden Kugelbakterien mit ihren zahlreichen Vertretern.

Besonders in unrein gewonnener Milch sind Vertreter der Gruppe: Bacillus coli und Bacillus aerogenes in größeren Mengen zu finden, während sie in reinlichen Betrieben normalerweise fast fehlen. Es sind kräftige Gasbildner, die die Milch stark zersetzen und meist schon nach kürzerer Zeit ungenießbar machen. Sie wachsen sowohl aërob als auch anaërob.

Alle bisher genannten Bakterienarten der frischen Milch bilden keine Sporen. In sehr geringen Mengen findet man in der Milch aber auch aërobe Sporenbildner, die aber infolge ihres hohen Temperaturoptimums bei der gewöhnlichen, kühlen Aufbewahrung der Milch kaum eine starke Vermehrung aufweisen können.

Von anaëroben, sporenbildenden Bakterienarten, die auch zu den weniger zahlreichen Befunden in normaler Marktmilch zählen, sind unter anderen auch Vertreter der uns schon bekannten Bakteriengruppen Bacillus amylobacter und Bacillus putrificus nachgewiesen worden.

Schließlich können wir in der Milch noch Strahlenpilze oder Aktinomyceten vom Futterstaub stammend finden, dann Schimmelpilze und Hefen.

Die Milch und ihre rohen Produkte enthalten normalerweise keine menschenpathogenen Bakterienarten. Trotzdem werden aber durch dieselbe in vielen Fällen Infektionskrankheiten übertragen, da ihre keimtötende Kraft keineswegs diese Bakterienarten so wesentlich schädigt, daß sie nicht mehr infektionstüchtig wären.

Bei den durch Milch bewirkten Übertragungen von ansteckenden Krankheiten kann es sich um solche handeln, die das Tier befallen haben und gleichzeitig für den Menschen gefährlich sind, wie Milzbrand, Maul- und Klauenseuche und auch Tuberkulose und Rotz, oder um solche, die nur durch die Milch von Menschen zu Menschen verschleppt werden. Hier sind vor allem zu nennen der Typhus, die Cholera, die Diphtherie u. a. mehr. Über die Übertragbarkeit der Rindertuberkulose auf den Menschen sind die Akten noch keineswegs geschlossen, da eine solche von namhaften Forschern, wie Robert Koch, auf Grund zahlreicher Untersuchungen in Abrede gestellt wird. Mit absoluter Sicherheit ist die Möglichkeit einer Tuberkuloseinfektion durch die Milch von Kühen, die an Euter- oder schwerer allgemeiner Tuberkulose leiden, durchaus nicht auszuschließen und deshalb nur dann der Genuß roher Milch unbedenklich, wenn sie aus Milchbetrieben stammt, die den Gesundheitszustand ihrer Kühe aufs sorgfältigste überwachen. Die außerordentlich große Empfänglichkeit der meisten Menschen für die anderen übertragbaren Tierkrankheiten steht wohl außer jedem Zweifel.

Was nun die Übertragung von Typhus-, Cholera- und Diphtheriebakterien und wahrscheinlich auch von Scharlach durch die Milch anlangt, so steht fest, daß Epidemien tatsächlich des öfteren auf den Genuß der rohen infizierten Milch hin ausgelöst wurden. Dies gilt vornehmlich für Typhusepidemien. Sowohl Typhusbazillen als auch Choleravibrionen und Diphtheriebakterien können sich einige Zeit hindurch besonders bei höherer Aufbewahrungstemperatur in der frischen Milch sogar vermehren, bleiben aber sicher so lange in der frischen Milch lebensfähig und viruleut, als sie überhaupt im Haushalte roh aufbewahrt wird. Auch die Möglichkeit der Verbreitung von Infektionskrankheiten durch die rohe Milch mahnt zur Vorsicht bei deren Genuß.

2. Milchsäurebakterien.

Neben den normalerweise in der Milch nicht in den Vordergrund tretenden Umsetzungen der stickstoffhaltigen Verbindungen verlaufen die besonders auffallenden Gärungs- oder Zersetzungsprozesse des Milchzuckers.

Der Vorgang der Bildung von Milchsäure aus Milchzucker als enzymatischer Prozeß wurde schon erörtert. Zahlreiche Bakterien-

arten der großen Gruppen Kugel- und Stäbchenbakterien bilden nun das Milchsäureenzym und vergären dementsprechend Laktose. Die Zahl der speziell in der Milch freiwillig auftretenden Milchsäurebakterien ist sehr groß. Dabei hat es sich gezeigt, daß viele als besondere Arten beschriebene Milchsäurebildner nur Varietäten einer Spezies und daher sehr zweckmäßig in Gruppen zu vereinigen sind, die eine Reihe besonderer Typen charakterisiert.

So hat unter anderen auch Löhnis in der letzteren Zeit den Versuch gemacht, in das Chaos der Milchsäurebakterien dadurch Ordnung zu bringen, daß er große Sammelgruppen mit Untergruppen aufstellte, die durch besondere Typen gegeben sind. Im folgenden sei auf die Einteilung näher eingegangen.

I. Gruppe des Bacterium pneumoniae Friedländer.

Nach Löhnis sind in der „Gruppe des Bacterium pneumoniae Friedländer" diejenigen Milchsäurebakterien vereint, deren Form ziemliche Variationen aufweist. Typisch mißt die Breite $^3/_4$—1 μ, die Länge 1—$1^1/_2$ μ, wenn die Schwankungen auch recht beträchtlich sein können. Die Stäbchen sind unbeweglich und neigen zur Bildung von längeren oder kürzeren Fadenverbänden. Sporenbildung fehlt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 28 und 42° C. Die Vertreter dieser Gruppe sind teils fakultativ anaërob, teils streng aërob. Die meisten derselben verflüssigen die Gelatine nicht, koagulieren aber die Milch innerhalb kürzerer oder längerer Zeit, während nur wenige überhaupt keine Fällung des Kaseins herbeiführen. Sie produzieren meist linksdrehende, selten inaktive und rechtsdrehende Milchsäure. Außer Laktose werden von ihnen noch Saccharose, Maltose, Lävulose, Dextrose, Galaktose, Arabinose, Xylose, Mannit und Glyzerin vergoren. Dabei entstehen meist Kohlensäure, Wasserstoff und in seltenen Fällen auch Methan. Auch das Auftreten flüchtiger Säuren, wie Essigsäure und Ameisensäure wurde beobachtet. Überdies entsteht mitunter Bernsteinsäure in sehr beträchtlicher Menge. Geringe Alkoholbildung ist nicht selten. Löhnis teilt die ganze Gruppe in sieben Unterabteilungen, die durch folgende Typen charakterisiert sind.

1. Typus: Bacterium acidi lactici Hüppe. Hierher gehören die Milch zur Gerinnung bringenden und gasbildenden Formen, denen auch die Vertreter der Aerogenes-Gruppe zuzuzählen sind.

2. Typus: Bacterium limbatum Marpmann. Die hierher zu rechnenden Formen koagulieren Milch, bilden aber kein Gas.

3. Typus: Bacterium pneumoniae Friedländer. Dazu sind diejenigen Formen zu rechnen, die Gas bilden, aber die Milch nicht zur Gerinnung bringen. Auch die entsprechenden pathogenen Bakterien gehören dazu.

4. Typus: Bacillus lactis innocuus Wilde. Es sind nicht gaserzeugende und milchkoagulierende Bakterien.

5. Schleimiger Typus. Durch starke Schleimbildung ausgezeichnete Formen. Hierher sind die Erreger der schleimigen Milch zu setzen, die gleichzeitig eine Milchsäuregärung veranlassen.

6. Rankenbildender Typus. Formen mit verzweigten Kolonien.

7. Verflüssigender Typus. Gelatineverflüssigende Formen.

Den Anhang zu dieser großen Gruppe I der Milchsäurebakterien bilden nach Löhnis die verschiedenen Varietäten des Bacillus coli, zu denen auch verschiedene Aromabakterien gehören.

II. Gruppe des Streptococcus pyogenes Rosenbach.

Die Vertreter derselben weisen eine sehr verschiedene Gestalt auf. Als typisch können ovale, häufig an einem Ende lanzettförmig verjüngte Formen von 0,6—1 μ Länge und ungefähr 0,5 μ Breite angesehen werden, die oft zu zweit vereint vorkommen oder in Form kurzer Kettenverbände mit 4—6 Gliedern. Man findet aber auch eine deutlich ausgesprochene Stäbchengestalt, indem die Länge bis 2 μ erreicht und die Breite bis zu 0,3 μ absinkt. Daneben treten hypertrophische Zellformen auf, deren Größe auf 2—3 μ ansteigt. Die meisten Bakterien dieser Gruppe sind unbeweglich. Sporenbildung wurde bisher nicht beobachtet. Sie sind nicht besonders sauerstoffliebend, da sie sich bei niederer Spannung desselben besser entwickeln als bei ungehindertem Luftzutritt. Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt für die nicht pathogenen Vertreter dieser Gruppe zwischen 30 und 35° C, während die pathogenen Formen bei 37° am besten gedeihen. Die Milch wird durch einige Bakterien der „Streptokokkusgruppe" innerhalb von 24 Stunden zur Gerinnung gebracht, durch andere nur langsam und wieder andere überhaupt nicht. Sie vergären Laktose vorwiegend zur rechtsdrehenden Modifikation der Milchsäure. Selten entsteht die razemische Verbindung und Linksmilchsäure. Unter ihnen finden sich auch farbstoffbildende Bakterienarten, die ein rotes oder gelbes Pigment erzeugen. Wenn überhaupt eine Gasbildung bei der Zersetzung von Kohlehydraten auftritt, so besteht das Gas vorwiegend aus Kohlendioxyd, in einigen Fällen scheint es auch Wasserstoff zu enthalten. Im allgemeinen vergären sie außer Laktose noch Traubenzucker, Lävulose, Maltose, Rohrzucker, Galaktose und unbedeutend Glyzerin. Neben Milchsäure entstehen nur unbedeutende Mengen anderer organischer Säuren oder sie fehlen völlig.

Die Untergruppen dieser II. Hauptgruppe werden durch sieben Typen repräsentiert.

1. Typus: Streptococcus mastitidis Guillebeau. Die Vertreter desselben sind gasbildend und bringen die Milch zur Gerinnung.

2. Typus: Streptococcus lactis Lister. Hierher gehören Formen, die die Milch koagulieren, bei der Vergärung des Milchzuckers aber kein Gas bilden

3. Typus: Streptococcus Kefir Migula. Diese Bakteriengruppe, der nur wenige Vertreter angehören, bilden bei der Gärung Gas, koagulieren Milch aber nicht.

4. Typus: Streptococcus lactis innocuus Löhnis. Hierher gehören Bakterien, die weder die Milch zur Gerinnung bringen noch Gase erzeugen.

5. Typus, dadurch gekennzeichnet, daß die hierher gehörigen Varietäten sehr stark Schleim erzeugen.

6. Typus, gekennzeichnet durch die Rankenbildung der Kolonien, die also verzweigte, weite Ausläufer aufweisen.

7. Verflüssigender Typus, da die hierher zu rechnenden Mikroben Leim peptonisieren. Zu diesem Typus gehören auch nur wenige Formen.

III. Gruppe des Bacterium caucasicum (v. Freudenreich) Lehmann et Neumann.

Diese Gruppe setzt sich vornehmlich aus Käsebakterien zusammen, die für die Käsereifung von Bedeutung sind. In ihr sind auch jene der vergorenen Milchgetränke aufgenommen, bei deren Herstellung sie eine wesentliche Rolle spielen. Die Gruppe erhielt auch den Zusatz Bacterium casei.

Die Vertreter dieser Gruppe weisen unter den Milchsäurebakterien die größte Variabilität der Form auf. Als typische Gestalten können schlanke Stäbchen gelten, deren Länge 2—3 μ und deren Breite $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$ μ mißt. Außerdem kommen sehr verkürzte Zellen und lange Fadenverbände vor, in denen die Zellgrenzen nicht mehr sichtbar sind. Neben diesen ungegliederten Fäden beobachtet man auch deutliche Kettenbildungen, also gegliederte Fäden. Den Vertretern dieser Gruppe fehlt ein Schwärmstadium und die Fähigkeit der Sporenbildung. Sie scheuen Sauerstoffspannungen in der Größe derjenigen in der Atmosphäre, sind also anaërob. Ihr Temperaturoptimum für das Wachstum liegt verschieden, aber im allgemeinen hoch, meistens zwischen 40 und 50° C. In bezug auf Stickstoffquellen sind sie anspruchsvoll, denn sie gedeihen nur bei Anwesenheit von eiweißartigen Verbindungen und einer besonderen Kohlenstoffquelle, die vergoren wird. Sie sind zwar nicht Gelatine verflüssigend, trotzdem einige Vertreter dieser Gruppe Kasein peptonisieren. In dieser Gruppe brachte Löhnis auch noch Arten unter, die Laktose nicht angreifen. Alle vergären aber Dextrose, Lävulose und Galaktose unter Kohlensäurebildung, wenn es zur Gasbildung kommt. Pathogen ist kein Bakterium dieser Gruppe.

Sechs Typen geben die Grundlage für die weiteren Unterabteilungen dieser III. Gruppe.

1. Typus: Bacillus casei Freudenreich. Die hierher gehörigen Bakterien fällen in der Milch das Kasein und vergären die genannten Zucker unter Gasbildung.

2. Typus: Bacterium casei Leichmann. Diese Bakterienarten erzeugen kein Gas, koagulieren aber die Milch.

3. Typus: Bacterium caucasicum Lehmann und Neumann. Bakterien, die Milch nicht zur Gerinnung bringen, aber Zucker unter Gasbildung vergären.

4. Typus: Bacillus Delbrückii Leichmann. Die diesen Typus repräsentierenden Arten bilden kein Gas und erzeugen in der Milch keine Kaseinfällung.

5. Typus: Schleimbildner verschiedener Herkunft.

6. Typus: Bakterien, deren Kolonien rankenartige Verzweigungen und Ausläufer besitzen.

IV. Gruppe des Micrococcus pyogenes Rosenbach (Micrococcus lactis acidi).

Diese letzte Gruppe der Milchsäurebakterien umfaßt Kugelbakterien vom Durchmesser 0,8—1,6 μ, die teils einzeln, teils als Doppelkugeln und auch zu Häufchen vereint vorkommen. Die meisten von ihnen sind unbeweglich. Sporenbildung fehlt. Es sind genügsame Bakterienarten, die auch ohne Eiweißnahrung gedeihen. Ihr Temperaturoptimum liegt meist zwischen 20 und 30° C. Ihr Sauerstoffbedürfnis ist groß. Unter ihnen finden sich auch zahlreiche farbstoffbildende Arten. Außerdem gehören zu ihnen solche Formen, die die Milch verderben, indem sie ihr entweder einen bitteren Geschmack verleihen oder sie fadenziehend und schleimig machen. Unter ihnen gibt es auch pathogene Bakterien, deren Virulenz aber sehr schwankend ist.

Die sieben Untergruppen sind durch folgende Typen gegeben:

1. Typus: Micrococcus pyogenes Rosenbach, Kokken, die Gelatine peptonisieren und Milch zur Gerinnung bringen.

2. Typus: Micrococcus lactis acidi Marpmann. Diesen Kugelbakterien fehlt die Fähigkeit der Gelatineverflüssigung, wohl aber koagulieren sie das Kasein der Milch.

3. Typus: Micrococcus cremoides Zimmermann. Diese Kokken verflüssigen die Gelatine, bringen aber Milch nicht zur Gerinnung.

4. Typus: Micrococcus candicans Flügge. Hierher gehören Kugelbakterien, welche Gelatine nicht peptonisieren und Kasein nicht fällen.

5. Typus der Schleimbildner, die alle Milch sehr stark fadenziehend machen.

6. Typus: Umfaßt Kokken, deren Auflagerungen Rankenbildungen aufweisen.

7. Typus: Diesen machen Kugelbakterien aus, welche unter kräftiger Gasbildung wachsen. Es wurden nur wenige bekannt, die zu seltenen Befunden zählen.

Die Gruppe der Mikrokokken beschließen als Anhang die „Sarzina-Formen“ mit wenigen Vertretern.

Die Typen sämtlicher vier Gruppen sind durch Übergangsformen verbunden, und Varietäten einer Art müssen den angegebenen Merkmalen entsprechend verschiedenen Typen zugeteilt werden. Trotzdem genügt diese Einteilung von Löhnis den praktischen Zwecken. Wissenschaftlich ist sie aber keineswegs. Dies gilt in besonderem Maße für die zweite Gruppe, die „Streptokokken“ oder wie sie in der Milchbakteriologie auch häufig kurzweg „Milchstreptokokken“ genannt werden. Trotzdem reine Kugelformen bei ihnen zu den Seltenheiten zählen, ist die Hauptgruppe selbst als Kettenkugelbakterie ebenso wie alle Typen benannt. Auch die einseitig zugespitzten Formen dürfen nicht als Kokken bezeichnet werden, wenn wir nicht die vorläufige, mühsame Formfeststellung einfach über Bord werfen wollen. Ob damit aber eine besondere Klarheit und Eindeutigkeit der Namen und der Vorstellungen erreicht wird, bleibe dahingestellt. Jedenfalls ist eine andere Abgrenzung und Zusammenziehung der Arten mit entsprechenderer Nomenklatur ein berechtigter Wunsch, der auch von anderer Seite schon geäußert wurde.

Außer den genannten Bakterientypen, von denen allerdings einige nicht Milchsäure bilden, können noch zahlreiche andere Bakterienarten die Milch säuern. Auch sie vergären die Laktose zu Milchsäure. Sie gehören zu den Stäbchenbakterien und Schraubenbakterien. Auf sie braucht nicht näher eingegangen zu werden. Das gleiche gilt auch für sporenbildende Stäbchenbakterien, die der Darmflora angehören. Für die Milchsäurebildung in vergorenen Milchgetränken, wie im Kefir und im armenischen Mazun, kommen ebenfalls sporenbildende Bakterien in Frage, die später genauer behandelt werden sollen.

Die Menge der in der Milch gebildeten Milchsäure ist in erster Linie von der Art des Erregers abhängig. Es ergeben sich allerdings keine sehr großen Unterschiede, wenn man die verschiedenen diesbezüglichen Angaben vergleicht. Als Mittelwert kann eine Menge von 0,5% Milchsäure angesehen werden. Sobald dieser Gehalt erreicht ist, steht die weitere Milchsäurebildung von selbst still, da die gebildete Säure auch das weitere Wachstum der Milchsäurebakterien hemmt. Sorgt man durch fortwährende Zugaben von unschädlichen Metalloxyden oder überhaupt Neutralisierungsmitteln für eine ständige Bindung der Milchsäure, so kann der Prozeß der Milchsäuregärung bis zum Verschwinden des gesamten Milchzuckers weitergetrieben werden. Die Milch selbst enthält schon in ihren mehrbasischen Phosphorsäureverbindungen und im Kaseinkalk Neutralisierungsmittel, die sich mit der Milchsäure umsetzen. Es hat sich ergeben, daß die Menge der freien Milchsäure, die von den Milchsäurebakterien vertragen wird, sehr gering ist, denn sie überschreitet 0,04% nicht. Bei der freiwilligen Milchsäuregärung in der Milch verläuft die Bindung der Milchsäure aller Wahrscheinlichkeit nach in der Weise, daß zuerst eine Umwandlung der zweibasischen phosphorsauren Salze in einbasische erfolgt, wobei milchsaures Kalium, Kalzium und Magnesium neben den Monophosphaten entsteht. Die weiterhin entstehenden Milchsäuremengen setzen sich mit dem Kaseinkalk um, indem die Milchsäure dem Kasein Kalk entzieht und dabei Kaseinmilchsäureverbindungen und Kalziumlaktat bildet. In dieser Hinsicht wirken also die zweibasischen Phosphate und der Kaseinkalk als Neutralisierungsmittel, nach deren Verbrauch nur noch geringe Mengen freier Milchsäure bei der spontanen Milchsäuerung auftreten.

Bei der freiwilligen Säuerung der Milch zeigt es sich auch, daß trotz der starken Vermehrung der Milchsäurebakterien keine besondere Säurezunahme anfangs zu beobachten ist. Diese, unmittelbar nach dem Melken einsetzende Periode der Milchsäurebakterienvermehrung ohne Säuerung nennt Soxhlet das „Inkubationsstadium der Milchsäuregärung". Es verlängert sich mit abnehmender Aufbewahrungstemperatur, denn die Dauer beträgt bei 10° etwa 48—72 Stunden, bei 20° 12 bis 20 Stunden und bei 37° nur mehr ungefähr 5 Stunden.

Die bei der Milchsäuregärung in mehr oder minder großer Menge auftretenden Nebenprodukte wurden schon bei den Gruppen der Milchsäurebildner kurz erwähnt. Es scheint, daß deren Auftreten nicht nur von der Bakterienart selbst abhängt, sondern auch von der Temperatur, bei der die Gärung erfolgt.

Auch das Milchfett kann einer bakteriellen Zersetzung unterliegen, die durch die fettspaltenden Enzyme oder Lipasen der betreffenden Bakterienarten hervorgebracht wird.

3. Bakterien der Milchfehler.

Die beim Aufbewahren von Milch eintretenden und auch von jedem Laien grobsinnlich wahrnehmbaren Veränderungen derselben bestehen gewöhnlich in einem Dickwerden unter gleichzeitiger Säuerung der Milch. Die Vorstufen dieser Veränderung, die noch nicht so augenfällig in Erscheinung treten, machen sich beim Kochen etwas länger aufbewahrter, aber noch nicht dick gewordener Milch durch eine kräftige Kaseinabscheidung bemerkbar. Die Kaseinfällung ist wohl meist auf die durch die Milchsäurebakterien erzeugte saure Reaktion der Milch zurückzuführen. Übrigens sind auch Milchbakterien bekannt geworden, die Casease, also Lab, erzeugen, wodurch die Kaseinfällung beschleunigt wird. Beim spontanen Gerinnen der Milch werden vielfach beide Prozesse beteiligt sein und der eine oder andere höchstens überwiegen. Außer einem ausgiebigen Abbau des Milchzuckers und Fettes treten beim Aufbewahren der Milch auch Zersetzungen der stickstoffhaltigen Verbindungen ein.

Die Milch enthält als Produkt lebender Zellen an und für sich eine Reihe von Enzymen, die in sehr geringem Grade gewiß an den Umsetzungen ihrer Bestandteile beteiligt sind. Gegenüber der Wirkung der Milchbakterien und höheren Pilze ist diejenige der Milchenzyme aber verschwindend klein und kann nach den vorläufigen diesbezüglichen Untersuchungsergebnissen unbeachtet bleiben. Dies gilt in noch größerem Umfange für den Abbau des Milcheiweißes. In den in der Praxis vorkommenden Aufbewahrungszeiten der rohen Milch kommt es selten zu einem tiefen und umfangreicheren Zerfall der Eiweißkörper der Milch, obwohl dazu befähigte Mikroorganismen nach unseren Auseinandersetzungen über die Milchflora sogar ziemlich reichlich in derselben vorhanden sind und auch später hineingelangen. Daß hier eine tiefgehende Fäulnis erst spät eintritt, hat seinen Grund in der rasch und ausgiebig entstehenden Milchsäure, die auf die meisten Bakterien mit Ausnahme der Milchsäurebildner schon in geringen Mengen stark hemmend und vernichtend wirkt. Wenn aber gleich zu Beginn der Aufbewahrungsperiode die Fäulnisbakterien die Oberhand gewinnen, dann können wir auch an der Milch alle Vorgänge einer echten Fäulnis beobachten. Nach sehr langer Zeit kann ebenfalls der Fäulnisprozeß einsetzen, wenn die gebildete und fäulnishemmende Milchsäure von Bakterien und Schimmelpilzen weiterverarbeitet und auf diese Weise weggeschafft wird. Wir finden in der faulenden Milch die schon besprochenen Abbauprodukte wieder, so daß darüber weiter nichts mitzuteilen ist.

Eine verhältnismäßig häufige Erscheinung ist das **Verschleimen und Fadenziehen** aufbewahrter Milch. Die Erreger derselben sind meist Bakterien, die in seltenen Fällen aus dem Euter her schon in der Milch sind oder später größtenteils aus den Melkgeräten und Aufbewahrungsgefäßen in dieselbe gelangen. Häufig handelt es sich dabei auch um Wasserbakterien. Unter den Milchbakterien ist die Zahl derjenigen Arten groß, die eine Schleimbildung in der Milch verursachen können. Es wurde auch jeder der vier großen Gruppen der Milchsäurebakterien eine Unterabteilung beigegeben, die durch den schleimbildenden Typus gekennzeichnet ist. Übrigens ist die Eigenschaft der Schleimbildung durchaus nicht konstant, sondern tritt gelegentlich bei zahlreichen Milchsäuremikroben vorübergehend auf.

Außer den schleimerzeugenden Vertretern der Milchsäurebakteriengruppen bewirken auch mitunter sporenbildende Bakterienarten diese Erscheinung. Die Vertreter der großen Gruppe der Kartoffelbazillen kommt dabei in manchen Fällen sicher ebenfalls in Frage.

Was die gebildeten Schleimmassen selbst anlangt, so sind dieselben entweder stickstofffrei oder stickstoffhaltig, aber immer als Produkte der betreffenden Bakterienart aufzufassen. Die Schleime sind wahrscheinlich gummiartige Stoffe, die vornehmlich Anhydriden von Kohlehydraten entsprechen. Dies gilt in erster Linie für die Gallertbildungen der Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae". Der Stickstoffgehalt mancher Schleimstoffe, die besonders von Bakterien der Gruppe „Streptococcus" erzeugt werden, ist in erster Reihe auf Mucin zurückzuführen.

Die visköse Beschaffenheit der Milch wird dadurch noch erhöht, daß zahlreiche Schleimbildner entweder durch ihr Chymosin oder durch gleichzeitig gebildete Milchsäure das Kasein teilweise oder ganz, grob oder feinflockig fällen. Außerdem kann es sich um Bakterien handeln, die wie zahlreiche Vertreter der Gruppe „Bacterium pneumoniae" zur Kapselbildung neigen und mitunter größere Gallerthüllen hervorbringen. In diesem Falle ist die ganze Milch durchwegs von froschlaichähnlichen Gebilden durchzogen, die in größeren und kleineren schleimigen Klümpchen auftreten.

Auch höhere Pilze, wie Oidium lactis, können gelegentlich als Ursache der Schleimbildung von Milch auftreten, wenn ihnen auch normalerweise die Fähigkeit dazu mangelt.

Die Erreger der absichtlich hervorgerufenen Schleimbildung bei der Herstellung des Edamer Käses und der schwedischen Dichtmilch sollen später besprochen werden.

Häufig werden durch Bakterien auch eigenartige **Geschmacksveränderungen** und **besondere Gerüche** in der Milch erzeugt, die auf bestimmte, oft nicht näher bekannte Stoffwechselprodukte derselben zurückgeführt werden müssen. Die Erzeugung solcher Geschmacks- und Geruchsstoffe ist ebenfalls keine dauernde Eigenschaft dafür etwa spezifischer Bakterienarten, sondern tritt bei manchen Arten gelegentlich auf, um alsbald wieder zu verschwinden. Es dürfte dies mit der eben herrschenden Disposition der Milch für das Entstehen solcher Stoffe zusammenhängen, worüber wir aber sehr wenig wissen.

Neben anderen Ursachen bewirken den öfter auftretenden **bitteren Geschmack** der Milch vornehmlich Mikroorganismen, die alle die Fähigkeit besitzen, die Eiweißstoffe der Milch zu zersetzen und dabei organische Bitterstoffe zu erzeugen. Die Zahl der als besondere Arten von Bitterstoffbildnern beschriebenen Bakterienarten ist schon sehr groß geworden. Wolff ordnet sie in fünf Gruppen ein. Die Vertreter derselben rekrutieren sich aus sporenbildenden Subtilis- und Kartoffelbazillenarten, die die Milch gleichzeitig unter Lösung des Kaseins gelblich oder bräunlich verfärben, aus sporenbildenden, verflüssigenden Buttersäurebakterien, aus nicht sporenbildenden Stäbchenbakterien ohne besonders ausgesprochenes Kaseinlösungsvermögen, aus nicht Sporen erzeugenden, aber Milch kräftig peptonisierenden Stäbchenbakterien und endlich aus kleinen Kugelbakterien, die ebenfalls sehr energisch milchpeptoni-

sierend wirken. Über die Bitterstoffe **selbst** sind wir nur wenig unterrichtet. In einigen Fällen soll übrigens Ammoniak und Azetaldehyd den bitteren Geschmack hervorrufen.

Auch zahlreiche höhere Pilze sind als Ursache des bitteren Geschmackes der Milch bekannt geworden, wie Saccharomyceten und Torulaarten, dann Cladosporium, Monilia- und Oidiumarten und endlich Schimmelpilze.

Eine andere Art von Geschmacksänderung der Milch durch Bakterien ist die Bildung des **Seifengeschmacks**, den eine Reihe von Varietäten des Bacillus lactis saponacei Weigmann et Zirn hervorbringen. Auch Vertreter der weit verbreiteten Gruppe der fluoreszierenden Bakterien erzeugen häufig in der Milch einen seifig-laugigen Geschmack, wie beispielsweise das Bacterium saponacticum Eichholz, das gerade in niederen Temperaturen von 5—7° diese Veränderung besonders herbeiführt. Daneben tritt übrigens in diesem Falle der sog. „Kuhgeruch" noch auf.

Den ranzigen und talgigen Geschmack der Milch bringen insonderheit einige Mikrokokken hervor. Der **Geruch** der Milch kann ebenfalls durch Bakterien und auch höhere Pilze ungünstig beeinflußt werden. Es gibt unter den Bakterien Arten, die in Milch einen intensiven Gestank nach Limburger Käse erzeugen.

In vielen Fällen treten Geruchs- und Geschmacksstoffe gleichzeitig in der Milch auf. Dieselben sind mitunter angenehm, mitunter sehr unangenehm. Häufig bekommt die Milch bei der Aufbewahrung im Eisschrank ein ausgesprochen fruchtesterartiges Aroma, das sehr angenehm und mitunter auch beim Rahm und bei der Butter wahrzunehmen ist. Es dürfte sich bei diesen Bakterienarten um Varietäten der Coli- und Aerogenes-Gruppe handeln. Die Pseudomonas trifolii Huk erzeugt neben dem bitteren Geschmack in der Milch einen typischen Heugeruch. Auch der minder angenehme, schon früher genannte Kuhgeruch und der meist gleichzeitig auftretende „Stallgeschmack" gehen häufig ebenfalls auf Vertreter der beiden obengenannten Bakterienarten zurück. Es ließen sich noch viele Beispiele verschiedener Geschmacks- und Geruchsänderungen der Milch infolge Bakterientätigkeit aufzählen, was aber zu weit führen würde.

Durch Pigmentbildung der in der Milch wachsenden Bakterienarten wird oft eine **Farbenveränderung** derselben herbeigeführt. Allbekannt ist die rote und blaue Milch. Abgesehen von dem Übergang von Farbstoffen höherer Pflanzen nach dem Genusse derselben in die Milch bewirken eine Rotfärbung hauptsächlich Bacillus prodigiosus und Bacterium lactis erythrogenes, seltener Sarcina rosea, während die Blaufärbung durch das Pigment von Bacillus cyanogenes, violaceus, cyaneofluorescens und Bacterium coeruleum hervorgebracht wird. Eine Gelbfärbung zeigt die Milch bei reichlicher Entwicklung des Bacillus synxanthus in derselben.

4. Bakterien der Milchprodukte.

a) Lange Wei.

Mit „Lange Wei" bezeichnet man eine schleimige, fadenziehende Molke, die eine verbreitete Verwendung für die Herstellung des

Edamer Käses in Holland besitzt. Die Schleimbildung geht auf den „Streptococcus hollandicus“ zurück, einer fakultativ anaëroben, oder vielleicht besser gesagt, wenig sauerstoffliebenden Bakterienart. Dieselbe zeigt die beste Schleimentwicklung bei 21—22° C und mäßigem Luftzutritt. Als Stickstoffquellen kommen für diesen Mikroben nur die Milcheiweißkörper und Peptone in Frage, während einfachere Verbindungen nicht ausnützbar sind. Der Schleim ist wahrscheinlich stickstoffhaltig und entsteht bei Darreichung von Laktose, Maltose, Galaktose und Dextrose als Kohlenstoffquelle.

b) Schwedische Dichtmilch.

Die schwedische Dichtmilch (tätmjölk), auch Zähmilch und Langmilch genannt, wird durch absichtliche Verschleimung von Milch hergestellt. Als Erreger der Schleimbildung kommt hier eine dem „Streptococcus hollandicus“ nahe verwandte Bakterienart in Frage, welche unter dem Namen „Bacterium lactis longi“ näher untersucht und beschrieben ist und auch der Milchsäurebakterie „Bacterium Güntheri“ außerordentlich nahesteht. Nur der Mangel der Schleimbildungsfähigkeit trennt beide letztgenannten Arten. Für Bacterium lactis longi liegt das Temperaturoptimum unter 20° C.

c) Rahm und Butter.

Wenn wir schon die rohe Milch als so reich an Bakterien erkannt haben, darf es nicht wundernehmen, wenn die Produkte aus derselben, wie Rahm und Butter, ebenfalls eine große Mikrobenflora aufweisen, da bei dem Aufrahm- und Verbutterungsverfahren sehr viele Bakterien aus der Milch hinein gelangen. Speziell der saure Rahm enthält reichlich Milchsäurebakterien. Außerdem findet bei der Herstellung und Aufbewahrung der Butter ebenfalls meist eine ausgiebige Infektion derselben statt, da sowohl von den Geräten und dem Gebrauchswasser als auch aus der Luft zahlreiche Bakterien und Pilze in die Butter gelangen. Da von vielen Seiten eine kräftig schmeckende Butter mit stärkerem Aroma gewünscht wird, pflegen seit langem manche Molkereien den sog. „Säurewecker“ zu verwenden. Dies geschieht besonders vor der Verbutterung pasteurisierten Rahmes. Als Säurewecker dient vornehmlich spontan sauer gewordene Magermilch und Buttermilch. In neuerer Zeit gebraucht man auch Zusätze von flüssigen Reinkulturen der Milchsäurebakterien und Aromaerreger. Besonders Milchstreptokokken werden dazu meist verwendet.

Alle genannten Umstände üben einen bedeutenden Einfluß auf den Bakteriengehalt der Butter aus. Derselbe wird dementsprechend auch sehr schwankend und variabel sein. Unmittelbar nach der Fertigstellung der Butterziegel ist die Bakterienzahl infolge des Durchknetens innen und außen gleich. Während des Aufbewahrens tritt aber eine gewaltige Änderung derselben ein, wie aus der folgenden kleinen Zusammenstellung zu entnehmen ist. Dieselbe ist in verkürzter Form aus Jensens Untersuchungen wiedergegeben.

Aufbewahrungstemperatur 18—20° C	Aufbewahrungsdauer	Bakterienzahl in 1 g Butter	
		Oberfläche	Inneres
Süßrahmbutter:	Sofort nach der Herstellung . .	2500000	2500000
	3 Tage	35000000	19000000
	1 Woche	8240000	18000000
	2 Wochen	6000000	4000000
	4 „	4000000	1000000
	6 „	1600000	480000
Sauerrahmbutter	Unmittelbar nach der Herstellung	13000000	13000000
	1 Woche	16000000	2000000
	2 Wochen	16000000	2000000
	4 „	3000000	640000
Butter aus künstlich gesäuertem Rahm	frisch	11000000	—
	1 Woche	12000000	—
	1 Monat	4000000	—
	2 Monate	1800000	140000

Im allgemeinen findet also in den ersten Tagen nach der Herstellung ein Ansteigen der Keimzahl statt, das außen größer ist als im Innern. Später sinkt die Keimzahl wieder ab, und zwar am raschesten bei der Süßrahmbutter und der Butter aus künstlich gesäuertem Rahm. Bei länger dauernder Aufbewahrung nimmt die Keimzahl im Innern der Butter besonders stark ab, so daß gerade die verdorbene alte Butter die geringste Zahl von Bakterien aufweist. Die Butter ist ja auch wegen ihres kleinen Gehaltes an Stickstoffverbindungen und der großen Menge Fett für die meisten Mikroorganismen kein besonders günstiger Nährboden.

In der frischen Butter finden sich nun die meisten Bakterienarten wieder, die bereits bei den Milchbakterien beschrieben worden sind. Auch hier übt die Temperatur insofern einen Einfluß aus, als höhere Temperaturgrade das Auftreten und die Vermehrung der Vertreter aus der Gruppe der Milchsäurestreptokokken fördern, während niedere Aufbewahrungstemperaturen eine reiche Vermehrung der Mikrokokken begünstigen. Außerdem finden wir in der Butter die Euterbakterien größtenteils wieder, die wir bei Besprechung der aseptisch gewonnenen Milch bereits erwähnt haben. Auch Vertreter der Coli- und Aerogenes-Gruppe zählen zu häufigen Befunden. Außerdem sind in der Butter von nicht sporenbildenden Bakterienarten noch öfter Bacillus prodigiosus, Proteusarten und verflüssigende, fluoreszierende Bakterienarten nachweisbar. Von sporenbildenden Mikrobenarten kommen in der Butter Heubazillen und Kartoffelbazillen nicht selten vor und ganz besonders aërobe und anaërobe Buttersäurebakterien.

Zu dieser gewöhnlich vorfindlichen Bakterienflora treten noch Strahlenpilze, Hefen und Schimmelpilze in mehr oder minder großer Anzahl hinzu, die sich bei der Aufbewahrung der Butter besonders in den oberflächlicheren Partien derselben entwickeln. Einen Überblick über die Zusammensetzung der Gesamtflora der allerdings gesalzenen Sauerrahmbutter gibt uns eine Zusammenstellung von Teichert, deren Zahlen Mittelwerten von 15 Proben entsprechen.

Milchsäurebakterien	8599000
Kleinzellige Torulahefen . . .	1326000
Oidium lactis	58000
Rote Hefen	13000
Kahmhefen	2100
Penicillium glaucum	1400
Mucor mucedo	500
Summe in 1 Gramm Butter	10000000.

Die in der Butter nun vorkommenden Pilzarten üben, abgesehen von chemischen und physikalischen Einwirkungen, auf die Haltbarkeit, den Geschmack, das Aroma und den Geruch derselben einen großen Einfluß aus. Aroma- und Geschmacksänderungen müssen dabei keineswegs immer von ein und derselben Art gleichzeitig hervorgebracht werden, wenn es auch vielfach geschieht. Aroma und Geschmack der Butter werden wahrscheinlich durch geringe Mengen von flüchtigen Nebenprodukten der Milchsäuregärung, dann Spaltungsprodukten des Fettes und endlich durch Zersetzungsprodukte der Eiweißkörper hervorgebracht. Für das Aroma kommen in erster Linie von zahlreichen Bakterien gebildete Fruchtester in Betracht. Übrigens ist die Eigenschaft der Aromabildung mancher Bakterien sehr labil und abhängig von äußeren Kulturbedingungen, die wir noch keineswegs genügend kennen.

Zahlreiche Bakterien und Pilze beeinflussen den Geschmack und das Aroma der Butter aber sehr ungünstig und erzeugen die verschiedenen Butterfehler.

Von letzteren ist das Ranzigwerden der Butter wohl für die Praxis am wichtigsten. Dasselbe wird durch zweierlei voneinander getrennten Prozessen hervorgerufen. Der eine ist eine Oxydation des Butterfettes durch Luftsauerstoff unter Beteiligung des Lichtes und hat deshalb mit der Mikroorganismentätigkeit nichts zu tun. Der zweite Vorgang, der das Ranzigwerden verursacht, geht auf Mikroben zurück, die mit Hilfe von fettspaltenden Enzymen, also Lipasen, eine Spaltung der fettsauren Triglyzeride herbeiführen und in der Folge noch eine tiefere Zersetzung der entstandenen Produkte bewirken. In der Praxis wird entsprechend der Aufbewahrung der eine oder andere Prozeß mehr in den Vordergrund treten oder beide gleichzeitig das Verderben der Butter herbeiführen. Wir wollen uns nur mit dem Ranzigwerden durch Mikroorganismen hier etwas näher beschäftigen. Gekennzeichnet ist das Ranzigwerden durch Organismentätigkeit dadurch, daß die Butter dunkler und durchscheinender geworden ist und daß sich in ihr freie, nichtflüchtige Fettsäuren in erheblicher Menge nachweisen lassen. Daneben finden wir meist noch eine kleine Menge verschiedener Buttersäureester. Dieselben entstehen immer dann, wenn das Ranzigwerden Mikroorganismen verursachen, die neben den Fetten auch gebundenes Glyzerin zu spalten vermögen, wie z. B. Penicillium glaucum oder der Pinselschimmel und das für ranzige Butter typische Cladosporium butyri. Außerdem wurden in solcher Butter auch Mykodermen gefunden, die für eine ausgiebige Zerlegung des gebundenen Glyzerins unter kräftiger Esterbildung sorgen. Durch die Spaltung des

Fettes entstehen flüchtige und nichtflüchtige Fettsäuren. Erstere verflüchtigen zum größten Teil und letztere bleiben zurück, soweit sie nicht einer tieferen Zersetzung unterworfen werden. Für die Spaltung des Fettes ohne Esterbildung kommen in erster Linie der Bacillus prodigiosus, fluoreszierende Bakterienarten und Oidium lactis in Betracht.

Das Ranzigwerden verläuft nun von außen nach innen, denn die dabei auftretenden Bakterien und Pilze sind durchweg aërob, also sauerstoffbedürftig. Allerdings sollen in einigen Fällen auch sauerstoffscheue Bakterien und ein ebensolcher Saccharomycet eine Fettspaltung in geringerem Umfange im Innern, also unter anaëroben Bedingungen, ausgelöst haben. Es muß dabei aber auch die Wirkung der in der Milch vorhandenen Lipase, die allerdings ebenfalls von Mikroben zum größten Teil stammen kann, in Berücksichtigung gezogen werden. Der Vorgang der Fettspaltung geht überhaupt noch lange weiter, wenn die lipolytischen Bakterienarten schon verschwunden sind, da ihre Lipase weiter wirkt.

Andere Butterfehler machen sich durch einen „öligen", fischigen oder „rübigen" Geschmack geltend. Man spricht dann von **öliger, fischiger oder rübiger Butter**, die durch Bacillus foetidus lactis und andere Arten erzeugt wird. Für erstere kommen besonders die fluoreszierenden Bakterienarten in Betracht, die auch bei tieferer Temperatur sich vermehren können und die Fettspaltung durchführen. Ölige oder fischige Butter entsteht gerade beim Aufbewahren in niederen Temperaturen. Man beobachtet dann noch bittere Butter, Faßbutter mit „staffigem" Geschmack und auch Butter mit einem „dumpf-bratigen" Geruch und Geschmack usw. Alle diese unerwünschten Veränderungen werden meist durch Bakterien hervorgerufen.

Außer den genannten Geruchs- und Geschmacksänderungen der Butter können durch Mikrobentätigkeit auch **Verfärbungen** derselben herbeigeführt werden. Einige Beispiele solcher seien kurz erwähnt.

Das Bacterium butyri rubri Stadlinger und Poda erzeugt in der Butter erdbeerfarbige Flecke und Nester. Es handelt sich bei dieser Bakterienart wahrscheinlich um eine dem Bacillus prodigiosus nahestehende Wasserbakterie.

Rotfleckige Butter entsteht durch eine Rosahefe, während Saccharomyces flava lactis Krüger einen gelben Überzug auf Butter erzeugt. Man hat auch Butter mit braunen und blauschwarzen Flecken beobachtet, die durch Schimmelpilze hervorgebracht werden.

d) Käsebakterien.

Ein sehr wichtiges Milchprodukt ist Käse, der in den verschiedensten Sorten hergestellt wird. Im Verlaufe der Erzeugung sind Bakterien sehr wesentlich als unentbehrlich beteiligt. Auch der Bakteriengehalt der Käsesorten ist sehr verschieden. Auf die Anzahl der Bakterien sind von Einfluß der ursprüngliche Keimgehalt der Milch und die Infektion bei der Herstellung. Letztere hängt wieder ab von der Reinheit der in der Käserei verwendeten Geräte, dem Mikrobengehalt des Gebrauchswassers, dem Keimgehalt der Luft des Käsereiraumes und endlich einem absichtlichen Zusatz gewisser Bakterien, die für das Entstehen eines bestimmten Endproduktes notwendig

sind. Auch die Art des Dicklegens, ob dasselbe mit sog. Naturlab oder Kunstlab oder endlich durch Säuerung geschieht, übt einen wesentlichen Einfluß auf die Zahl der Bakterien im Käse aus. Wie die Bakterienflora und Mikrobenzahl der Milch auch vom Futter der Tiere bis zu einem gewissen Grade abhängig ist, so zeigt sich dies auch beim Käse, der aus solcher Milch bereitet ist.

Die absolute Zahl der im Käse vorhandenen Bakterien ist im allgemeinen nur wenig kleiner als diejenige der Milch, da beim Dicklegen die meisten Bakterien in den Quarg oder Bruch übergehen. Sie ist, in ihrer Abhängigkeit von der Milch, dementsprechend in dem oben bereiteten, noch nicht gereiften Käse, sehr schwankend. Während des Reifungsprozesses steigt die Bakterienzahl anfangs sehr in die Höhe und fällt in der Folge meist unter die Anfangsmenge. Die äußeren Partien des Käses und besonders die Rinde sind am gereiften Käse enorm bakterienreich. Über den Keimgehalt in den verschiedenen Stadien der Reifung bekannter Käsesorten gibt uns die folgende Zusammenstellung nach Angaben von v. Freudenreich, Thöni für Emmentaler Käse und Harding und Prucha für Cheddarkäse einen guten Einblick.

1 g Käse	Reifungsdauer	Keimzahl in Millionen	Anmerkung
I. Emmentaler Käse. Zahlen nach v. Freudenreich. Innere Partien.	Bruch	0,75	Untersuchung mit Molkengelatine.
	8 Tage	1,50	
	14 „	8,60	
	27 „	40,60	
	71 „	28,80	
	91 „	19,10	
	136 „	5,50	
II. Emmentaler Käse mit Kunstlab dickgelegt. Nach Thöni. Innere Partien.	Bruch	2,50	
	1 Tag	146,25	
	10 Tage	60,00	
	28 „	20,00	
	44 „	42,50	
	140 „	2,55	
III. Emmentaler Käse mit Naturlab dickgelegt. Nach Thöni. Innere Partien.	Bruch	8,30	
	1 Tag	450,00	
	10 Tage	62,50	
	28 „	130,00	
	44 „	53,75	
	140 „	33,75	
IV. Cheddarkäse aus angesäuerter Milch bereitet. Nach Harding und Prucha	6 Stund.	10,00	
	1 Tag	30,00	
	10 Tage	40,70	
	50 „	10,20	
	150 „	0,50	

Besonders anschaulich werden die dabei in bezug auf die Bakterienzahl herrschenden Verhältnisse, wenn man mit den obigen Zahlen eine Kurve (Figur 123) konstruiert, in der auf der Abszisse die Reifungstage und auf der Ordinate die Keimmengen aufgetragen sind. Die voll ausgezogene Linie entspricht den Keimzahlen im Emmentaler Käse I, die

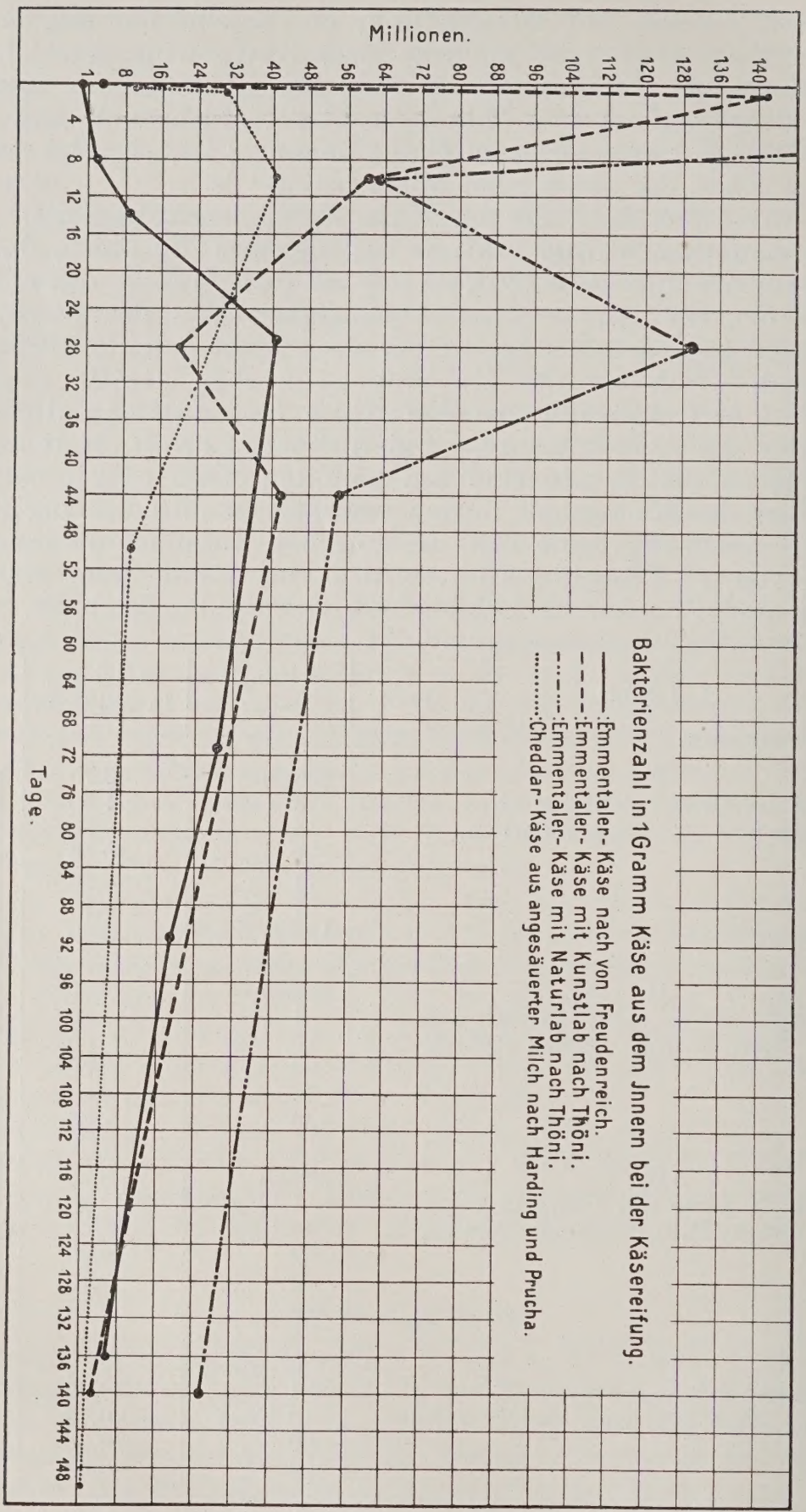


Fig. 123.

gestrichelte denjenigen in der Probe II und die strichpunktierte denjenigen der Probe III mit Naturlab. Gerade in letzterem Falle ist ein sehr rapider Anstieg der Bakterienzahl nach den ersten 24 Stunden zu bemerken, der

die ansehnliche Menge von 450 Millionen im Gramm erreicht. Um den Verlauf der einzelnen Kurven nicht zu verwirren, ist in diesem Falle nur der absteigende Ast eingetragen. Bei den Proben II und III macht sich in den folgenden 27 bzw. 44 Tagen ein nochmaliger Anstieg der Mikrobenzahl bemerkbar. Von da ab erfolgt dann der kontinuierliche Abfall bis zum Schluß des Reifungsprozesses. Die punktierte Linie markiert den Verlauf der Schwankungen der Keimzahlen beim reifenden Cheddarkäse. Hier erfolgt die Keimzunahme in den ersten zehn Tagen, worauf dann ein langsamer Abfall eintritt.

Auch in der Käserinde steigen in den ersten Zeiten der Reifung die Bakterienmengen ungeheuer an und erreichen viele hundert Millionen im Gramm. Später findet allerdings auch hier eine Abnahme statt, die aber niemals zu so niederen Mengen führt wie im Innern. Die folgenden Zahlen nach den Untersuchungen von Troili-Petersson geben in diese Verhältnisse einen guten Einblick.

Danach enthält die Rinde des Emmenthaler Käses im Gramm nach 15 Tagen 14000000000, nach 10 Monaten 15000000000, nach einem Jahre aber nur mehr 146000000 Mikroorganismen.

Die Vermehrung der Bakterien ist auch im Käse von der herrschenden Temperatur abhängig. Es gelten hier dieselben Angaben, wie sie bereits für die Milchbakterien früher gemacht wurden. Da für die Käsereifung gewisse Bakterienarten von besonderem Einfluß sind, so wird für die Reifung gerade jene Temperatur gewählt, die eine rasche Vermehrung und damit ein Überhandnehmen dieser Arten begünstigt.

Im Käse sind die Bakterien sehr ungleich verteilt. Wie zahlreiche Befunde beweisen, finden sich in den älteren Käsen die Bakterien ungleich über die Käsemasse meist in Nestern und Gruppen verteilt, während die jüngeren Käseproben die Mikroben vornehmlich zerstreut enthalten. Gorini bezeichnet die erstgenannte Verteilungsart als „Anhäufungsform", die andere als „Zerstreuungsform".

Die **Käsereifung** selbst ist ein komplizierter Vorgang, der sicherlich nicht durch eine einzige, bestimmte Bakterienart durchgeführt wird, sondern durch das Neben- und Hintereinanderauftreten zahlreicher Bakterienarten entsteht. Dabei wollen wir unter Käsereifung jene Summe von Prozessen verstehen, die sich an dem Milchzucker und an den stickstoffhaltigen Verbindungen des Bruches abspielen und dadurch jenes Produkt entstehen lassen, das wir als Käse bezeichnen. Dieser weiten Fassung des Begriffes entsprechend kann man drei Phasen der Käsereifung auseinanderhalten.

In der ersten Phase, der Vor- oder Anfangsgärung, treten die echten Milchsäurebakterien in den Vordergrund. Sie leiten in diesem Stadium der Reifung eine kräftige Milchsäuregärung ein. Am zahlreichsten sind in diesem Stadium die „Milchsäurestreptokokken" und insonderheit bei den Hartkäsen Vertreter des Bacterium caucasicum. Sie kommen mit dem Lab auch aus dem Kälbermagen in nicht unbeträchtlicher Menge in den Bruch. Ihre Vermehrung wird im Bruch der Hartkäse auch dadurch besonders gefördert, daß die Masse nicht durchlüftbar ist und so von außen her kein Sauerstoff zutritt, wodurch diesen anaëroben Bakterienarten innerhalb weniger Tage ein fast bis zur Rinde reichender sauerstofffreier Nährboden geboten ist. In den Weich-

käsen scheint allerdings eine schwache Durchlüftung der ganzen Masse stattzufinden, da auch in den innersten Partien noch Spuren von Sauerstoff jederzeit nachweisbar sind. In einigen Fällen sorgt man sogar für eine mäßige Durchlüftung, wie beispielsweise bei der Reifung des Roquefort-Käses. Besonders zu Beginn der Reifung treten auch die Milchsäure-Mikrokokken in erheblicher Menge auf, von denen die verflüssigenden Arten sicherlich an den Reifungsprozessen teilhaben. Die Milchsäuregärung verläuft in den Hartkäsen meist innerhalb weniger Tage, während sie in den Weichkäsen und Sauermilchkäsen längere Zeit fortdauert, was bei der großen Menge Milchzucker, die der Weichkäsebruch enthält, nicht wundernehmen kann.

Die zweite Phase der Käsereifung, die „Hauptgärung", ist durch die Umsetzungen der Eiweißstoffe und der entstandenen Milchsäure gekennzeichnet. In dieses Stadium fällt auch die Lochbildung zahlreicher Hartkäse. Das Verschwinden der Milchsäure erfolgt einerseits durch Bindung derselben an die mehrbasischen Kalziumphosphate und an den Käsestoff, andererseits durch Aufzehrung derselben von den Bakterien selbst und von Schimmelpilzen, die sie und die Laktate als Kohlenstoffquelle benutzen, und durch Bildung von Amniumlaktat, da bei der Umsetzung des Parakaseins beträchtliche Mengen von Ammoniak entstehen, was besonders für die äußeren Partien der Weichkäse zutrifft. Die Eiweißstoffe der Käsemasse erfahren einen teilweise recht tiefen Abbau. Die folgende Zusammenstellung der stickstoffhaltigen Abbauprodukte im Emmentaler und Cheddarkäse gibt einen Überblick über die gewaltigen Umsetzungen und Spaltungen der Eiweißsubstanzen bei der Reifung.

Emmentaler Käse		Cheddarkäse
Leucin	Tryptophan	Tyrosin
Tyrosin	Histidin	Oxyphenyläthylamin
Phenylalanin	Putresein	Arginin
Alanin	Cadaverin	Histidin
Glykokoll	Guanidin	Guanidin
Amidovaleriansäure	Lysin	Putresein
Asparaginsäure	Arginin?	Ammoniak
Pyrrolidincarbonsäure	Ammoniak	

Indol und Skatol fehlen in allen feinen Käsen; wenn sie überhaupt vorkommen, sind sie auch nur in sehr geringen Mengen zugegen.

In den Käsen finden sich noch wenig abgebautes Parakasein und Parakaseinverbindungen. Die Menge der Peptone und Albumosen ist ebenfalls gering.

Über die Verteilung des Stickstoffes auf lösliche Verbindungen, auf die Zersetzungsprodukte und endlich das Ammoniak geben uns die ermittelten Prozentzahlen Jensens (s. Tabelle S. 337) einen Aufschluß.

Die Mikrobenflora in den reifenden Käsen ist nun ebenfalls sehr verschieden und ausschlaggebend für das Endprodukt. Jedenfalls spielt bei der Reifung eine Reihe hintereinander und nebeneinander tätiger Mikroorganismen ein Rolle, da wir durch Variation der Flora auch einen

Käseart	In Prozenten der Gesamt-Stickstoffmenge sind:		
	Löslicher N	N der Zersetzungsprod.	Ammon-N
Emmentaler 12 Monate, innere Partie . .	33,15	17,35	2,37
Schweizer Magerkäse (reif), innere Teile .	41,51	7,90	6,40
Roquefort, Durchschnittsprobe, reif . . .	52,50	23,64	4,99
Camembert, reif, Inneres	95,52	8,71	8,71
Limburger Käse, 6 Wochen alt { Inneres .	24,82	5,27	4,37
Limburger Käse, 6 Wochen alt { Äußeres	55,10	12,58	4,51
Limburger Käse, reif, Äußeres	99,82	4,33	11,97

bedeutenden Einfluß auf den Geschmack und den Geruch des Käses und seine Konsistenz ausüben können. Wir haben es mit einer Summe von Vorgängen zu tun, deren Gesamterscheinung eben die Käsereifung ausmacht. Allerdings wirken dabei auch nichtmikrobielle Vorgänge mit, die auf Enzyme aus der Milch und auf das verwendete Lab zu beziehen sind.

Die Hauptwirkung kommt aber sicherlich den Mikroorganismen dabei zu. Für die verschiedenen Umsetzungen der Eiweißkörper im reifenden Käse kommen in erster Linie die peptonisierenden Mikrokokken und die säure-labbildenden Kokken in Frage, die auch zum großen Teil in dem Euter, bzw. in der aseptisch gewonnenen Milch schon vorhanden sind. Außerdem sind am Umsatz der stickstoffhaltigen Verbindungen die Vertreter der Gruppe Bacterium caucasicum, wie Bacillus casei ε Freudenreich, sicher stark beteiligt. Bei einigen wenigen Hartkäsen scheinen auch anaërobe Bakterienarten bis zu einem gewissen Grade wenigstens beteiligt zu sein. Viel öfter und in reicherer Menge findet man sie aber in Weichkäsen, wie zum Beispiel in dem nach Limburger Art bereiteten Backsteinkäse, der das Paraplectrum foetidum Weigmann neben dem Clostridium licheniforme reichlich enthält. Allerdings wirken außen zahlreiche peptonisierende Stäbchen- und Kugelbakterien, die wir soeben oben nannten. Außer den genannten Bakteriengruppen sind an der Eiweißzersetzung noch Tyrothrixarten, Oidium lactis, Hefen und Schimmelpilze mehr oder weniger nach der Käseart beteiligt.

Im Käse tritt bei der Reifung auch eine mehr oder minder ausgiebige Fettzersetzung ein. Bei derselben entstehen vornehmlich freie Fettsäuren, die nur zum Teil im fertigen Produkt noch vorhanden sind, da sie entweder durch Verdunstung schwinden oder auch von Mikroorganismen weiter zersetzt werden. Auch können sie mit Ammoniak sich umsetzen und auch andere neue Verbindungen eingehen, worauf beispielsweise das Entstehen von Buttersäureester zurückzuführen ist.

Die genannten Zersetzungen des Milchzuckers bzw. der Milchsäure, der Eiweißstoffe und des Fettes liefern eine Reihe von Produkten in größerer oder kleinerer Menge, die für den Geschmack und den Geruch der Käsesorten ausschlaggebend sind. Vor allem sind die verschiedenen Fettsäuren wichtig, deren Herkunft und Menge in der folgenden Zusammenstellung von Jensen verzeichnet sind.

Käsesorte	Äußeres	Inneres	1000 Gramm enthalten in Grammen:								
			Aus Fett entstanden		Durch Parakaseinspaltung oder Milchsäurezersetzung (Milchzucker) gebildet:					Gesamtmenge der flücht. Säuren	Gesamtmenge des Ammoniak
			Caprinsäure	Buttersäure	Valeriansäure	Buttersäure	Propionsäure	Essigsäure	Ameisensäure		
Emmentaler .	1		0,928	1,232	—	—	2,812	0,900	—	5,872	0,935
„		1	0,116	0,176	—	—	4,218	1,680	—	6,190	1,275
Edamer . . .		1	—	—	—	—	0,224	0,678	0,057	0,959	0,255
Schweizer	1		1,682	2,552	—	—	2,775	1,080	0,046	8,135	3,528
Magerkäse		1	0,986	1,496	—	—	2,405	1,200	0,138	6,225	4,548
Roquefort . .	1	1	0,928	1,672	—	—	—	0,540	0,092	3,232	1,955
Camembert .		1	0,081	0,246	—	—	—	0,069	0,082	0,478	2,975
Briekäse . . .	1		0,128	0,466	—	—	—	0,120	0,013	0,727	3,698
„ . . .		1	0,139	0,572	—	—	—	0,204	0,008	0,923	1,615
Romadourkäse	1		0,232	1,063	1,550	—	4,529	0,822	0,046	8,182	3,740
„		1	0,058	0,440	1,581	—	5,180	1,140	0,046	8,445	3,409
GlarnerSchabzieger . . .	1	1	1,195	1,848	—	4,452	9,102	3,198	—	19,795	3,655

Wir entnehmen daraus die große Verschiedenheit der Mengen flüchtiger Fettsäuren in den untersuchten Käsesorten. Im Käse finden sich meist nur Spuren von Alkoholen, in manchen Fällen aber auch nennenswerte Mengen. Neben dem durch Milchsäurebakterien entstandenen Äthylalkohol können anwesende Buttersäurebakterien auch geringe Quantitäten von Butyl- und Propylalkohol erzeugen; auch Amylalkohol kann von anderen Bakterienarten gebildet werden.

Die Reifungserreger liefern also eine Reihe von besonders schmekkenden Stoffen, die dem betreffenden Käse seinen eigentümlichen Geschmack verleihen. Als geschmackgebende Produkte der Erreger der Käsereifung können wir nennen: geringe Mengen von Alkohol, Azeton, Estern von flüchtigen Säuren und Milchsäure als stickstofffreie Verbindungen; dann Aminosäuren (Amidovaleriansäure, Glykokoll, Alanin), die dem Käse einen süßlichen Geschmack geben, und in minderwertigeren Käsesorten das capron-, capril- und caprinsaure Ammoniak und Ammoniak allein.

Es können sich im Käse während der Reifung aber auch spezifische Aromabildner etablieren, die den einer bestimmten Käsesorte eigentümlichen Geschmack und Geruch erzeugen, der meist auf noch wenig bekannte Stoffe zurückgeht. So erzeugt der den Tyrothrixarten nahebekannte Bacillus nobilis und auch der Bacillus bernensis Burri in Milchkulturen einen feinen Emmentaler-Käse-Geruch. Auch der Micrococcus casei liquefaciens aus Emmentaler Käse muß als Reifungserreger und gleichzeitig spezifischer Aromabildner angesehen werden. Ähnliche Erscheinungen gewahren wir auch an vielen anderen Milchsäurebakterien, ohne weiter auf Beispiele einzugehen. In zahlreichen Fällen fungieren höhere Pilze, Hefen und Schimmelpilze als Aromaerzeuger. So erzeugt das spezifische Aroma des Roquefort-Käses eine Varietät des Penicillium glaucum, das Penicillium roqueforti im Verein mit Oidium lactis. Eine Hefe, die aus

Harzkäse isoliert wurde, bringt beim Wachstum auf Kasein mit Milchsäure einen ausgesprochenen Harzkäsegeruch hervor. Auch hier gibt es noch zahlreiche andere Beispiele, auf die hier einzugehen zu weit führen würde.

In dem Stadium der „Hauptgärung" finden aber auch jene Konsistenzänderungen statt, die das Endprodukt kennzeichnen. Während der Reifung verliert der Käse einen großen Teil seines Wassergehaltes; außerdem nimmt der Käseteig entsprechend der Überführung des Parakaseins in die lösliche Form einen geschmeidigen, plastischen und sogar zerfließlichen Zustand an, der besonders bei den Weichkäsen ausgesprochen ist. Die sich unter Kohlensäureabgabe abspielenden Prozesse erzeugen bei der Reifung im Teig kleine und größere Hohlräume und Löcher, die man gewöhnlich als „Augen" bezeichnet. Dieselben treten besonders in einigen Hartkäsen auf. In denselben findet man Tropfen einer Flüssigkeit, die alle löslichen Produkte des Käses in reichem Maße enthält. Man nennt diese Tropfen „Tränen". Sie scheinen dadurch zustandezukommen, daß infolge der Lösung das Parakaseins bei der Reifung die Masse poröser und für Flüssigkeiten durchgängiger wird, die sich dann in den durch Gasbildung entstandenen Hohlräumen, „Augen", ansammeln. An der Wand der Hohlräume sitzen sehr häufig die sog. „Salzsteine". Dieselben sind körnige Häufchen, die sich mitunter reichlich im Emmentaler Käse finden und der Hauptmenge nach aus Tyrosin bestehen.

Während des Reifungsvorganges treten auch Farbenveränderungen sowohl im Innern als auch besonders an der Rinde auf. Dieselben hängen einerseits mit dem Durchsichtigwerden des Käsestoffes bei der Reifung zusammen, andererseits mit dem Auftreten bestimmter Bakterien und Pilze, die entweder der Käserinde ihre für die Sorte charakteristische Farbe verleihen oder gefärbte Zonen und Streifen im Innern erzeugen. So entstehen die graugrünen Nester im Gorgonzola und die grüne Marmorierung an der Schnittfläche des Roquefortkäses durch bestimmte Penicilliumarten. Die unbestimmt braungelbe bis braungraue Färbung der Rinde von den Hartkäsen ist nicht auf Bakterienfarbstoffe zurückführen, sondern auf ein Nachdunkeln des Käseteiges durch das Trocknen und Salzen. Eine Ausnahme macht der Edamer Käse, dessen Rinde künstlich gefärbt wird. Die Färbung der Rinde von Weichkäsen geht dagegen auf die Pigmente zahlreicher Bakterien und Pilze zurück.

Die dritte Phase der Käsereifung, die „Nachgärung", ist dadurch gekennzeichnet, daß die Anzahl der lebenden Mikroorganismen sehr absinkt und die noch stattfindenden Umsetzungen nur mehr durch die noch vorhandenen und hauptsächlich aus den toten Bakterienleibern stammenden Enzyme bewerkstelligt werden. Es treten dabei nur mehr oder weniger grob wahrnehmbare Zersetzungen ein, die zur vollen Reife des Produktes führen.

In der Käserei stellen sich nicht allzu selten abnormale Vorgänge ein, die zu schweren Fehlern des fertigen Käses führen. Solche betreffen in erster Linie die Konsistenz, dann den Geschmack und Geruch und endlich die Farbe des Produktes.

Eine ziemlich häufig auftretende Erscheinung ist das Blähen des

Käses. Dasselbe ist meist auf eine übermäßige Gasproduktion während der ersten Reifungszeit, also während der Pressung, zurückzuführen. Manchmal tritt es auch im späteren Verlaufe der Reifung ein, was aber ein seltener Befund ist. Das Blähen geht auf eine allzu rasche und energische Entwicklung von Hefen und auch gasbildenden Milchsäurebakterien und Buttersäurebakterien zurück.

Fehlerhaft ist auch das vollständige Ausbleiben der Lochung bei den Käsen, die nach Art der Emmentaler Käse bereitet sind. In diesem Falle spricht man von „blindem Käse". Es soll dieser Käsefehler auf das Fehlen der Propionsäurebakterien im Teig beruhen.

Die Gläsbildung der Hartkäse offenbart sich in einer bröckligen und zu Spaltungen neigenden Beschaffenheit des Käseteiges bei Hartkäsen. Sie soll in einer zu starken Milchsäurebildung ihre Ursache haben und auch durch zu niedrige Temperaturen des Reifekellers und zu trockene Luft desselben begünstigt, wenn nicht ausgelöst werden.

Durch die Ansiedlung schleimbildender Mikroorganismen in der Masse der Hartkäse kann dieselbe fadenziehend werden und auch sonst abnormale Reifeerscheinungen aufweisen. Die Urheber sollen vornehmlich schleimbildende Vertreter der Gruppe „Bacterium caucasicum" sein.

Weichkäse zeigen öfter eine zerfließliche Masse im ganzen oder nur streckenweise unter gelber Verfärbung dieser Stellen. Dabei tritt auch ein abnormaler Geruch auf. Als Erreger dafür gelten Varietäten des Oidium lactis.

Abnormale Verfärbungen sind ebenfalls am Käse nicht selten zu beobachten. Dieselben erstrecken sich entweder in Form von Flecken oder Netzen durch die ganze Käsemasse hindurch oder sitzen nur an der Oberfläche. Sie können ihre Ursache entweder in beigemengten Metallen haben, die aus den Gefäßen bei der Bereitung unbeabsichtigt hineingelangen, oder in Pilz- und Bakterienpigmenten. Auch Eisenbakterien sollen bei der Entstehung von dunklen Flecken im Käse neben anderen Bakterienarten beteiligt sein. Äußerliche braune Verfärbungen der Rinde gehen auf Bakterien und Schimmelpilze zurück. Für eine rote Farbe der Rinde kommen neben Bakterien auch Sproßpilze in Betracht.

Da man die genannten Käsefehler meist auf Infektionen von der Milch oder von außen her zurückführen konnte, so lag es nahe, auch in der Käserei das Reinzuchtsystem einzuführen. Man versuchte die passendsten Bakterien und Pilzgemische, die besonders bei der Reifung beteiligt sind, schon bei der Dicklegung dem Bruche einzuverleiben und so die Reifung in bestimmte erwünschte Bahnen zu lenken oder in solchen zu erhalten und dadurch andere unbeabsichtigte Infektionen auszuschließen. Damit bezweckt man weniger die Erreichung eines noch vorteilhafteren Produktes als vielmehr eine ausreichende Sicherheit im Betribe. Eine weitere Verbreitung hat die Anwendung von spesifischen Reifungskulturgemischen besonders in der Emmentaler Käserei gefunden. Nach den Untersuchungen von Freudenreich und seinen Mitarbeitern bewährten sich dabei Gemische von Bacterium casei ε und einer Mykodermaart sehr gut. Jensen empfiehlt auch als Reifungserreger bei höherer Temperatur wachsende Milchsäurestreptokokken und Propionsäure-

bakterien. Auch in den Betrieben für die Herstellung anderer Käsesorten werden heute schon vielfach bestimmte Reifungskulturen von vornherein der Käsemasse einverleibt.

G. Ameisensäuregärung.

Bei der mikrobiellen Zersetzung von Zuckerarten findet sich in vielen Fällen als ein Produkt Ameisensäure. Auch bei der Vergärung der Dextrose durch Bacterium coli, Bacterium ethaceticum u. a. entsteht neben reichlichen Mengen von Wasserstoff und Kohlendioxyd auch stets Ameisensäure. Diese Eigenschaft der Ameisensäurebildung aus Kohlenhydraten besitzen auch noch zahlreiche nicht gasbildende Mikroorganismen, wie z. B. der Bacillus typhi. Bei den Wasserstoff bildenden Mikroben kann man sich die Ameisensäurebildung im Sinne der Gleichung

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,H.COOH + 6\,H_2$$

vorstellen. Daneben kann noch eine vollständige Hydrolyse des Zuckermoleküles eintreten, wobei im Sinne der Gleichung

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,CO_2 + 12\,H_2$$

nur Kohlendioxyd und Wasserstoff als Endprodukte auftreten.

Die meisten Beobachtungen sprechen dafür, daß Ameisensäure wohl immer nur dann als Nebenprodukt nachgewiesen werden kann, wenn eine nicht gasbildende Bakterienart zugleich Äthylalkohol erzeugt. Die Spaltung des Dextrosemoleküles kann man sich unter diesen Umständen im Sinne der unten stehenden Gleichung vorstellen.

$$2\,C_6H_{12}O_6 + 3\,H_2O = 3\,C_2H_5OH + 6\,HCOOH$$

Die Ameisensäure findet sich als sehr häufiges Begleitprodukt von Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure.

H. Essigsäuregärung.

Für die aërobe Essigsäuregärung, wie sie in der Industrie gehandhabt wird, kommt nun eine Reihe von Mikroorganismen in Betracht, die mehr oder minder kräftig aus Äthylalkohol Essigsäure erzeugen. Diese Flora wechselt nun mit den Methoden der Essigherstellung, welche im Fabriksbetrieb nach verschiedenen Verfahren durchgeführt wird. Dabei herrschen im allgemeinen zwei Prinzipien. Entweder strömt die zu Essigsäure zu oxydierende alkoholhaltige Flüssigkeit im langsamen Strome über die Essigbakterien hinweg oder die Essigbakterien bilden auf der ruhenden alkoholischen Flüssigkeit Häute aus, die sogenannten Essigmuttern, in denen die Bakterien die Oxydation des Äthylalkoholes vollziehen. Nach dem zuletzt genannten Prinzip arbeitet man stets

im Hausbetrieb im kleinen und beim Orleansverfahren im großen, während bei der Schnellessigfabrikation nach dem erstgenannten Prinzip verfahren wird.

Die technische Seite beider Verfahren und die damit zusammenhängende Beurteilung, bzw. Kontrolle der Essigsäureerzeugung soll später kurz behandelt werden, nachdem ein Überblick über die Lebensvorgänge der wichtigsten Essigsäurebakterien zusammenfassend gegeben worden ist.

1. Biologie der Essigbakterien.

Alle Essigbakterien zeichnen sich nun durch eine mehr oder minder ausgesprochene Kahmhautbildung an der Oberfläche der Nährsubstrate aus. Diese Zoogloeen sind in vielen Fällen zart und dünn, mehr oder weniger verschleimt und fester oder lockerer gefügt. Die zwischen den Zellen liegenden Massen sind als Produkt der lebenden Zellen selbst aufzufassen. Bei einigen Arten werden ungeheure Gallertmassen von fast knorpeliger Konsistenz erzeugt, in denen die Zellen nur verhältnismäßig spärlich zu finden sind. Als Beispiel dafür kann das Bacterium xylinum

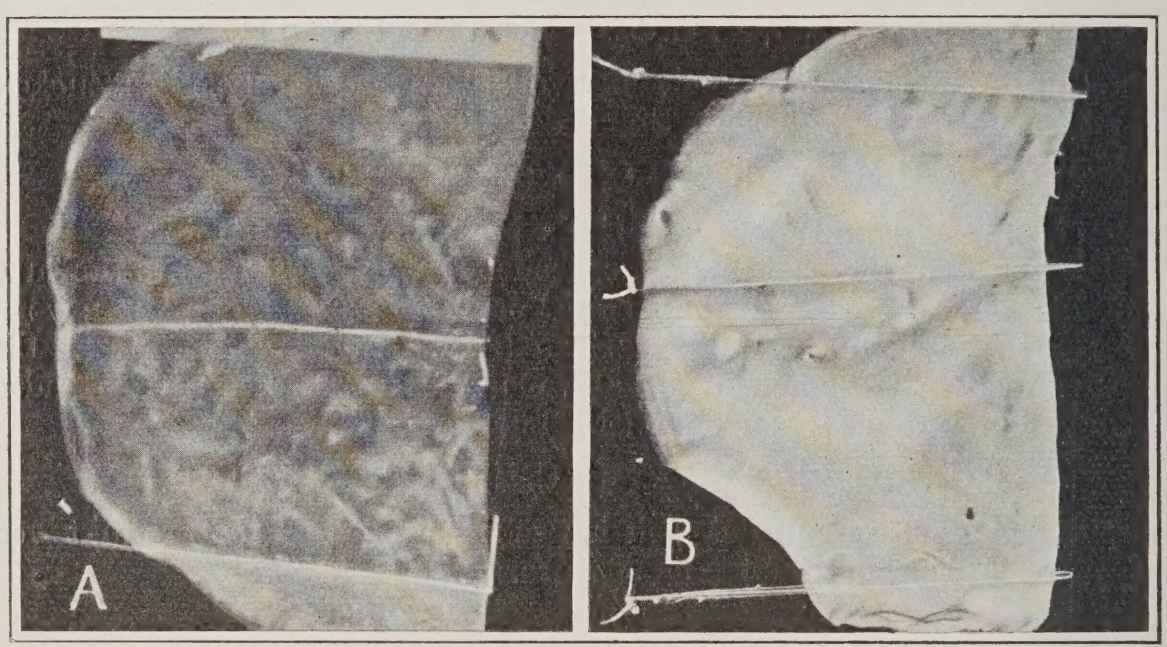


Fig. 124.

Brown gelten, dessen massige Zoogloeen oft die ganze Flüssigkeit erfüllen und durchsetzen. Übrigens ist das Hautbildungsvermögen bei allen Essigbakterien in großem Maße von den Ernährungsbedingungen abhängig, weshalb ein und dieselbe Art unter verschiedenen Züchtungsbedingungen verschieden dicke und verschieden gebaute Zoogloeen aufweist. Als Beispiel diene hier das Acetobacter plicatum Fuhrmann. Diese Weinessigbakterie erzeugt bei der Zucht in sterilisiertem, entalkoholisiertem Bier dünnere, sehr durchsichtige, mehr schleimige und fädige Kahmhäute, während sie auf sterilem Bier mit dem üblichen Alkoholgehalt zähe, fast undurchsichtige, trockener aussehende und homogene Häute hervorbringt. Aus der Figur 124 sind diese Verhältnisse deutlich zu erkennen, wo die beiden Essigmuttern auf schwarzer Unterlage photographiert wiedergegeben sind. *A* dieser Abbildung zeigt uns die Zoogloea auf alkoholfreiem

Bier nach zehntägigem Wachstum bei 20° C, während *B* derjenigen entspricht, die auf gewöhnlichem Bier nach ebenso langer Zeit entstand. Überhaupt sind die vorhandenen Kohlehydrate mit maßgebend für das Aussehen und die Struktur der Essighäute.

Wenn wir an feinen Querschnitten die Lagerung der Bakterien in der Zoogloea und die Struktur derselben untersuchen, so finden wir bei ein und derselben Essigbakterienart ebenfalls Unterschiede in dieser Hinsicht. Dabei spielt die Ernährung eine hervorragende Rolle, wie folgendes Beispiel zeigt. Züchtet man das sogenannte Acetobacter plicatum auf Wein, so bildet sich eine ziemlich durchscheinende, mäßig dicke Kahmhaut, in der die Zellen fest eingebettet sind. Beim Schütteln läßt sich dieselbe kaum in der Flüssigkeit verteilen. Ein daraus angefertigter Querschnitt zeigt nun bei stärkerer Vergrößerung eine sehr unregelmäßige Verteilung der Bakterien zwischen den Zoogloeamassen, wie es etwa der Figur 125 entspricht. Die Massen weisen eine fädige Beschaffenheit auf und nehmen kaum Anilinfarbstoffe bei den gewöhnlichen Färbungsverfahren an, während darin die einzelnen Bakterien gut gefärbt werden. Wesentlich anders sieht ein Schnitt durch die Essighaut aus, die innerhalb von zwölf Tagen auf alkoholfreiem Bier entsteht. In Figur 126 ist ein solcher etwas schematisiert bei etwa 200facher Vergrößerung wiedergegeben. Wir sehen hier eine deutliche Schichtung. Die lichten, faserigen Schichten entsprechen den zellenarmen verquollenen Gallertmassen, während die punktierten dunklen Bänder die zellenreichen Teile der Haut wiedergeben. Es scheint fast, als entstünden die derben Häute auf alkoholfreiem Bier in der Weise, daß immer neue Schichten angelagert werden. Zuerst wird eine dünne Zoogloea gebildet, die massenhaft Zellen enthält, welche in der Folge große Mengen Schleim absondern, dann kommt eine neue

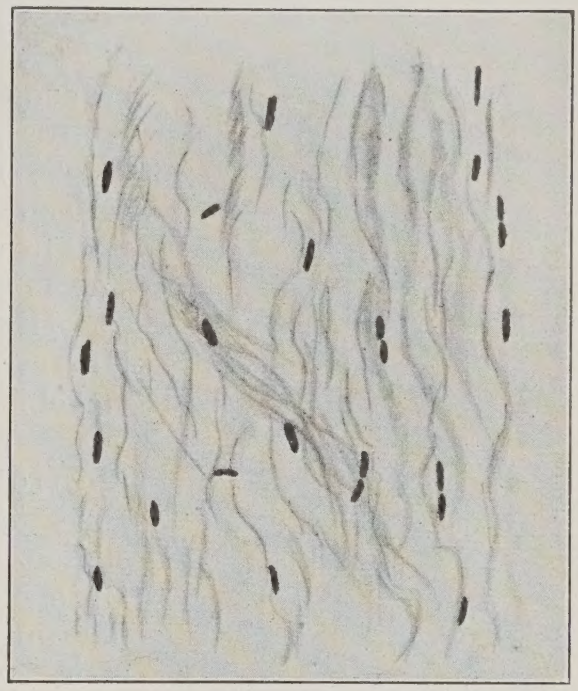


Fig. 125.

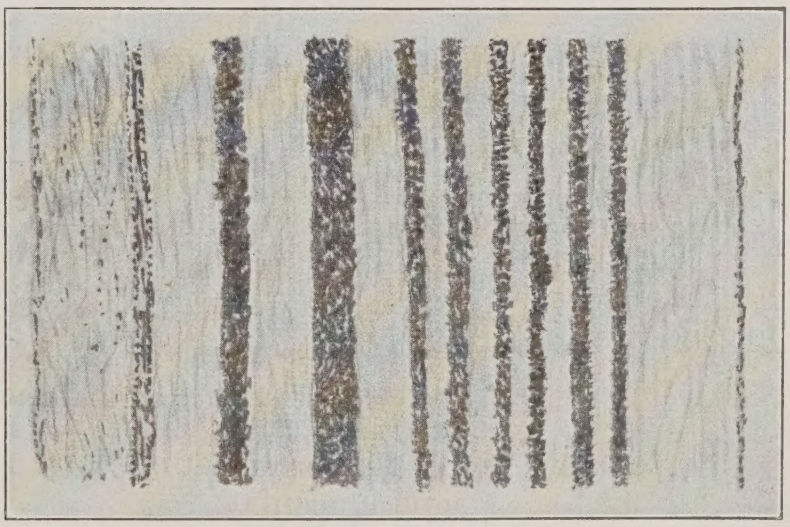


Fig. 126.

Zellenlage zur Entwicklung und wieder tritt die Gallertbildung auf und so fort. Wir hätten in dem Fall abwechselnd eine rege Vermehrung und darauffolgende Gallertentwicklung anzunehmen. Noch anders entstehen die Zoogloeen bei dieser Bakterienart auf Bier mit einem mäßigen, zwischen 2 und 3% ausmachenden Alkoholgehalt. In diesem Falle werden zuerst kleine grauweiße Inselchen an der Oberfläche gebildet, die später von einer durchsichtigeren Gallertmasse verbunden und zusammengehalten werden. Infolgedessen hat die Kahmhaut in diesem Falle ein marmoriertes Aussehen. In Figur 127 ist eine Kultur in Bier mit einem Alkoholgehalt von $2^1/_2$% abgebildet, wie sie sich bei 25° C in einigen Tagen entwickelt hat. Solche gefleckte und marmorierte Zoogloeen finden sich noch bei anderen Essigbakterien.

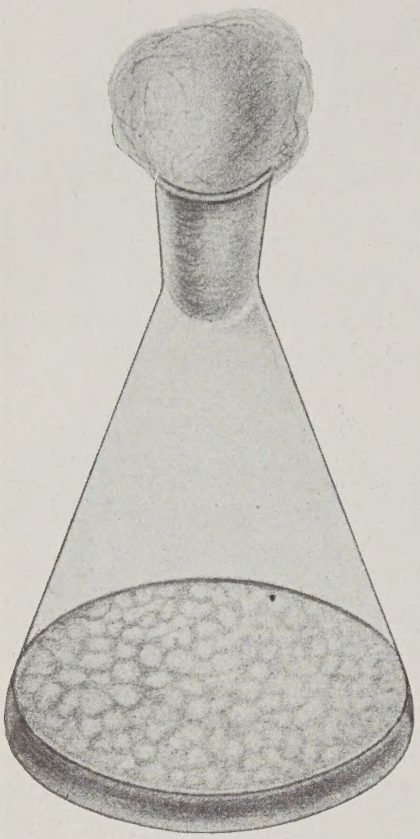


Fig. 127.

Hinsichtlich der Ansprüche an die Nahrung verhalten sich die Essigbakterien verschieden, wobei auch Unterschiede in bezug auf die Stickstoffquellen und Kohlenstoffquellen zu verzeichnen sind. Die größten Ansprüche an die Stickstoffquelle stellen die Bieressigbakterien. Aus den Untersuchungen Hennebergs über die Ernährungsbedingungen einiger Kultur-Schnellessig- und Weinessigbakterien geht hervor, daß sich darüber allgemein zutreffende Angaben kaum machen lassen, weil sich in bezug auf die Ernährung oft ein scheinbar grundloser Wechsel in den Ansprüchen ein und derselben Art einstellt. Die bisherigen Beobachtungensprechen höchstens dafür, daß in den meisten Fällen Ammonsalze den Stickstoffbedarf der Essigbakterien zu decken vermögen. In diesem Falle muß der Bakterienart aber eine besondere Kohlenstoffquelle zur Verfügung gestellt werden. Nach Untersuchungen Beijerincks genügte Schnellessigbakterien Essigsäure allein als Kohlenstoffquelle.

Nach Henneberg erweist sich für die Entwicklung der Schnellessigbakterien Bacterium curvum und Bacterium Schützenbachi folgende anorganische Nährlösung als vollkommen brauchbar:

Ammonphosphat	0,2 g
Ammonsulfat	0,1 g
Saures phosphorsaures Kalium .	0,1 g
Magnesiumsulfat	0,1 g
Destilliertes Wasser	100,0 cc

Allerdings muß zu obiger Nährlösung eine besondere Kohlenstoffquelle gegeben werden, welche in einem Zusatz von 6% Stärkesyrup und 3 Volumprozenten Äthylalkohol besteht.

War nun dieser Nährlösung von Haus aus 1% Essigsäure zugesetzt, dann gedeihen darin das Bacterium curvum und die Wein-

essigbakterie Bacterium vini acetati gut, weniger gut die Weinessigbakterie Bacterium orleanense, während Bacterium Schützenbachi in diesem Falle überhaupt nicht zur Entwicklung gelangte.

Die Verwendung chemisch definierter Nährstoffe für die Bakterien bei Stoffwechseluntersuchungen derselben ist sehr wertvoll, weshalb man bestrebt ist, solche in einfachster Zusammensetzung ausfindig zu machen. Nach Versuchen von Janke soll sich selbst für die anspruchsvollsten Essigsäurebakterien folgende Nährlösung ganz besonders eignen:

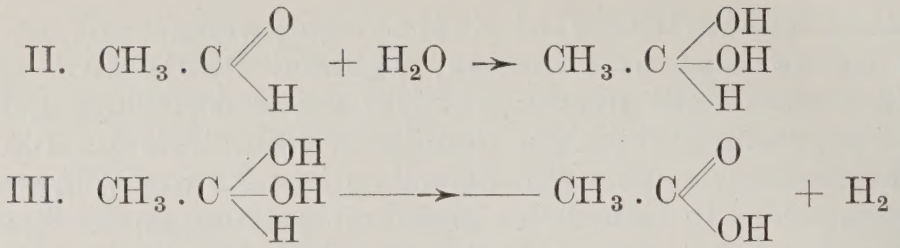
Sekundäres Kaliumphosphat . . .	0,4 g
Sekundäres Ammoniumphosphat . .	1,0 g
Kristallisiertes Magnesiumsulfat . .	0,4 g
Glyzerin	5,0 ccm
Bernsteinsäure	1,0 g
Destilliertes Wasser	1000,0 ccm
Äthylalkohol	30,0 ccm

An Stelle von Bernsteinsäure kann auch Essig- oder Phosphorsäure verwendet werden.

Für die Essigbakterien viel besser ausnützbare Stickstoffquellen sind Peptone und Albumosen, die im Verein mit Dextrose und Alkohol als Kohlenstoffquellen für alle Arten eine ausgezeichnete Nahrung abgeben. Überhaupt befördert ein geringer, bis 4% betragender Alkoholgehalt des Nährsubstrates die Vermehrung auffällig. Auch in den Essigmaischen, die gewöhnlich aus Lösungen von Stärkesyrup, Nährsalzen (sekundärem Ammoniumphosphat), Alkohol und Essig bestehen, findet nach Pepton- oder Fleischextraktzugaben ein ausgezeichnetes Wachstum statt. Daß man in der Praxis die Essigmaischen nur mit den oben genannten Bestandteilen ohne organische Stickstoffverbindungen herstellt und damit auch gut arbeitet, hat seinen Grund wohl darin, weil sowohl die Buchenholzspäne selbst einen genügenden Vorrat an organisch gebundenem Stickstoff enthalten als auch beim Ansatz des Bildners immer Beigaben von Malzauszügen oder Bier und Hefewasser gemacht werden, wodurch ebenfalls lange ausreichende organische Stickstoffverbindungen hineingelangen.

Die Essiggärung selbst besteht, wie schon früher (S. 100) ausgeführt, in einer oxydativen Spaltung des Äthylalkohols unter Beschleunigung durch die Alkoholase. Im Nachhange zur Besprechung der Alkoholase sei an dieser Stelle auf die eigenartige Anschauung Wielands über die Oxydasenwirkung hingewiesen, die im ersten Augenblick viel für sich zu haben scheint. Wieland will in der Bildung der Essigsäure aus Alkohol einen Dehydrierungsprozeß erblicken. Es soll zuerst durch den Luftsauerstoff dem Alkohol Wasserstoff entzogen werden, wobei Acetaldehyd entsteht. Der so entstandene Acetaldehyd bildet mit Wasser ein Hydrat, dem im weiteren Verlauf wieder Wasserstoff entzogen wird, wodurch eben Essigsäure entsteht. Die drei Etappen des Verlaufes könnte man etwa wie folgt veranschaulichen:

$$\text{I.}\quad CH_3CH_2OH \longrightarrow CH_3 . C\begin{matrix}O\\ \diagup\\ \diagdown\\ H\end{matrix} + H_2$$



Der Entzug des Wasserstoffes soll durch den Luftsauerstoff als Wasserstoffakzeptor bewerkstelligt werden. Als Wasserstoffakzeptor ist dazu aber keineswegs nur der Sauerstoff der Luft brauchbar, sondern auch Methylenblau oder Chinon. In diesem Falle vergären Essigbakterien den Alkohol auch unter Luftabschluß zu Essigsäure. Diese Erscheinung ist wohl die stärkste Stütze der Wielandschen Auffassung über die Essiggärung. Wie Versuche von Söhngen ergeben haben, besitzen gewisse Essigsäurebakterien in der Tat reduzierende Eigenschaften, indem bei Gegenwart von Thiosulfat, Sulfit oder Schwefel im Nährsubstrat Schwefelwasserstoff gebildet wird.

Auch Manganioxyde werden zu Manganoverbindungen reduziert, jedoch nur dann, wenn im Nährboden zu gleicher Zeit Traubenzucker vorhanden ist und die betreffende Bakterienart die Fähigkeit besitzt, die Dextrose zu Glukonsäure zu oxydieren.

Dies vermag unter anderen das Acetobacter melanogenum, eine farbstoffbildende Art, die gerade durch ihren Farbstoff eine Lösung von Manganioxyd bewirkt.

So interessant die Wielandsche Anschauung über die Essiggärung als Dehydrierungsprozeß auch ist, vermag sie dennoch eine Reihe von Erscheinungen oxydativer Natur nicht restlos zu erklären. Die bei der Besprechung der Alkoholase genannte Annahme eines etappenweisen oxydativen Abbaues des Alkohols zu Essigsäure scheint viel berechtigter zu sein und gewährt eine einfachere Erklärung der Erscheinungen. Mit Bach können wir für eine anaërobe Essiggärung beim Vorhandensein leicht reduzierbarer Verbindungen im Nährsubstrat, wie Methylenblau oder Chinon, auch die Möglichkeit annehmen, daß die in Form von Methylenblau oder Chinon zugesetzten Wasserstoffrezeptoren durch Anlagerung des Wasserstoffes aus dem Wasser Sauerstoff frei machen. Letzterer oxydiert dann den Alkohol, bzw. Aldehyd zu Essigsäure. Für die Dehydrierung des Wassers werden Reduktasen in Frage kommen, über welche die Essigbakterien ohnehin verfügen.

Die neueren Untersuchungen über den Verlauf der Essigsäuregärung haben mit Sicherheit ergeben, daß normalerweise bei der Oxydation des Alkohols zu Essigsäure Acetaldehyd als Zwischenprodukt gebildet wird. Neuberg und Nord konnten den Acetaldehyd mit Hilfe der Abfangmethode beim Gärversuch erhalten. Im wesentlichen besteht die Abfangmethode darin, einen mikrobiellen Umsetzungsprozeß in Gegenwart von Verbindungen durchzuführen, die einerseits für die Mikroben selbst unschädlich sind und andererseits sehr leicht mit dem vermuteten Zwischenprodukt reagieren und damit stabile Verbindungen eingehen. Neuberg und Nord haben nun das Bacterium Pasteurianum in Bierwürze mit einem Zusatz von Sulfit und Kreide bei möglichst eingeschränkter Luftzufuhr gezüchtet und konnten dabei eine Acetaldehydmenge erhalten, die etwa einem Sechstel der gebildeten

Essigsäuremenge entsprochen hat. Ähnliche Kulturversuche mit Bacterium ascendens ergaben Mengen, die sogar ein Drittel erreichten. In der industriellen Essigerzeugung ist die Erscheinung eines starken Auftretens von Acetaldehyd bei Betriebsstörungen schon lange bekannt.

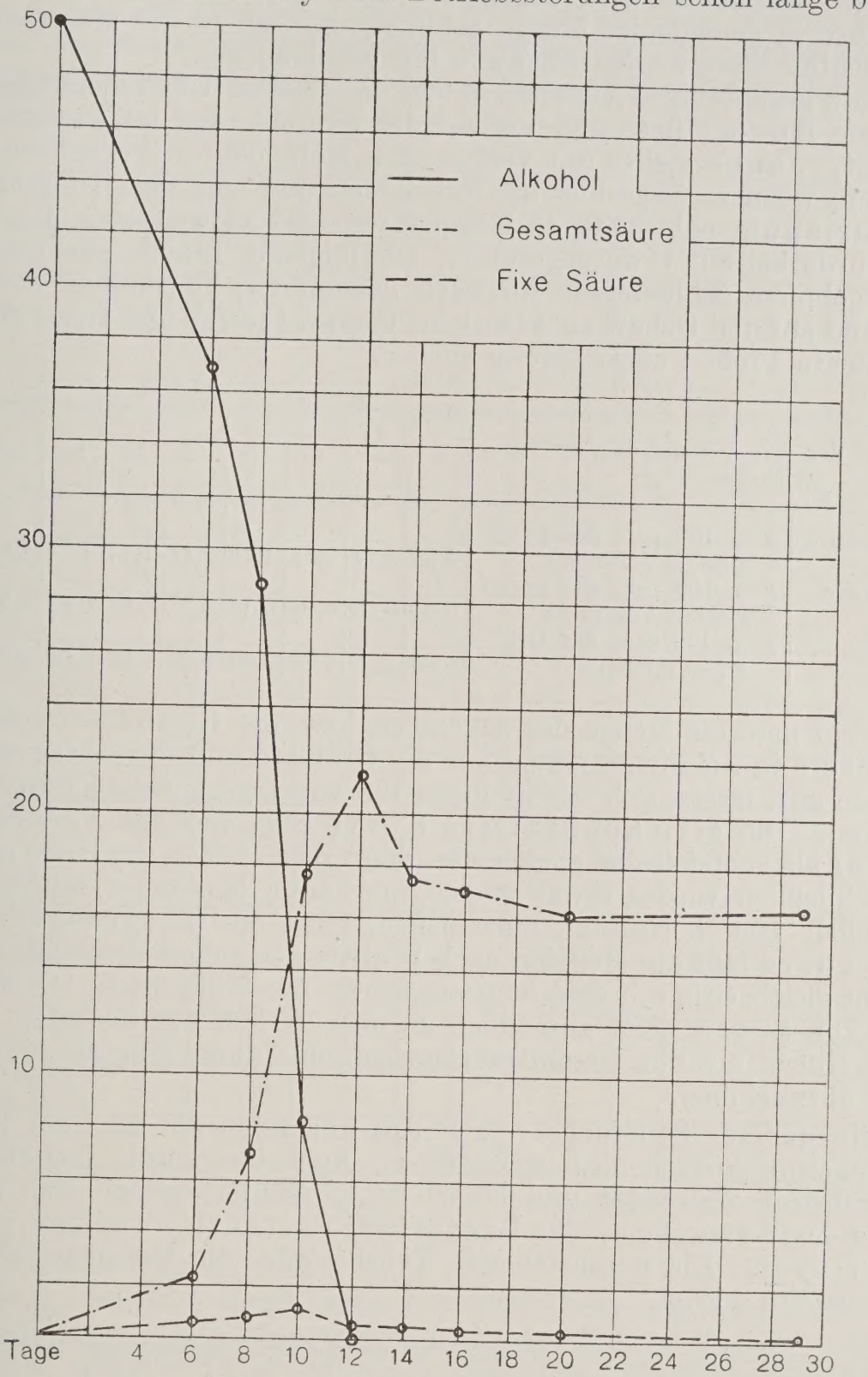


Fig. 128.

Von Bedeutung ist auch der zeitliche Verlauf der Essigbildung. Die darüber vorliegenden älteren Angaben Hoyers besagen, daß die Säuerungskurve aus drei Ästen besteht, von denen der erste nahezu horizontal verläuft und der Zeit der Zellvermehrung nach der Impfung

entspricht. Der zweite Ast ist steil ansteigend entsprechend der nunmehr rasch verlaufenden Säurebildung. Der dritte Teil der Kurve geht wieder abwärts, was mit der Weiteroxydation der gebildeten Essigsäure zusammenfällt. Jedenfalls wird neben der flüchtigen Essigsäure auch eine fixe Säure in genügender Menge gebildet, die sich in der Mehrzahl der untersuchten Fälle als Milchsäure identifizieren ließ.

Trotz gegenteiliger Angaben haben die neueren Untersuchungen die Annahme Hoyers über den Verlauf der Säurebildung im wesentlichen bestätigt. Janke stellte mit verfeinerten Methoden diesbezügliche Versuche an, wozu er Lagerbier als Nährboden und eine dem Bacterium Pasteurianum nahestehende Essigbakterienart verwendete. Der Versuch wurde bei 30° C durchgeführt. Die folgende Tabelle gibt die Versuchsergebnisse zahlenmäßig für nach bestimmten Zeiträumen entnommene und auf den Gehalt an Alkohol, Gesamtsäure und fixer Säure untersuchte Proben auszugsweise wieder.

Anzahl der seit Versuchsbeginn verstrichenen Tage		0	6	8	10	12	14	16	20	29
Gesamtsäure	g in 100 ccm des korrigierten Volumens . . .	0,05	0,24	0,71	1,79	2,14	1,77	1,71	1,61	1,64
Fixe Säure	g in 100 ccm des korrigierten Volumens . . .	0,04	0,07	0,08	0,13	0,3	0,24	0,22	0,21	0,15
Alkohol	g in 100 ccm des Originalvolumens	5,09	3,72	2,87	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Trägt man die Menge des Alkoholes, bzw. der Gesamtsäure und der fixen Säure in Zehntelgrammen auf die Ordinate und die Zeiten auf die Abszisse auf, lassen sich die in Figur 128 wiedergegebenen Kurven konstruieren. Die strichpunktierte Kurve zeigt uns den Säuerungsverlauf als zuerst leicht ansteigend, dann sehr steil in die Höhe gehend und schließlich wieder etwas steiler und dann langsamer fallend, um schließlich fast horizontal hinzuziehen. Die vollausgezogene Alkoholkurve fällt am steilsten nach Eintritt der vollen Vermehrung und erreicht gleichzeitig mit dem Säuremaximum den Nullpunkt. Die Kurve der fixen Säure steigt allmählich an und erreicht den höchsten Punkt etwas früher als die Gesamtsäuremenge, um dann langsam und fast stetig abzunehmen.

Ein anderer Säuerungsversuch Jankes zeigt die scharfen Knicke der Säuerungskurven noch eindeutiger. Auch hier wurde Lagerbier als Nährsubstrat verwendet und bei 30° C gezüchtet, jedoch eine andere Bakterienart verwendet, das Bacterium Pasteurianum var. variabile Hoyer. Die untenstehende Tabelle gibt die Versuchsergebnisse auszugsweise wieder.

Anzahl der seit Versuchsanfang verstrichenen Tage		4	7	8	9	11	14	21	32
Gesamtsäure	g in 100 ccm des Originalvolumens	0,16	1,59	2,84	3,08	3,24	2,61	0,65	0,4
Alkohol	g in 100 ccm des Originalvolumens	3,76		0,94	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00

Die nach den Gesichtspunkten der Figur 128 angefertigte Alkohol- und Säurekurve ist in Figur 129 abgebildet. Die strichpunktierte Linie entspricht dem Verlaufe der Bildung der Gesamtsäure. In den ersten vier Tagen zur Zeit der starken Vermehrung wird nur wenig Säure gezeugt, weshalb die Kurve nur leicht ansteigt. Vom vierten zum siebenten Tag findet ein fast stetiger jäher Anstieg der Säuremenge statt, um dann bis zun 21. Tag in einen ähnlich steilen Abfall überzugehen.

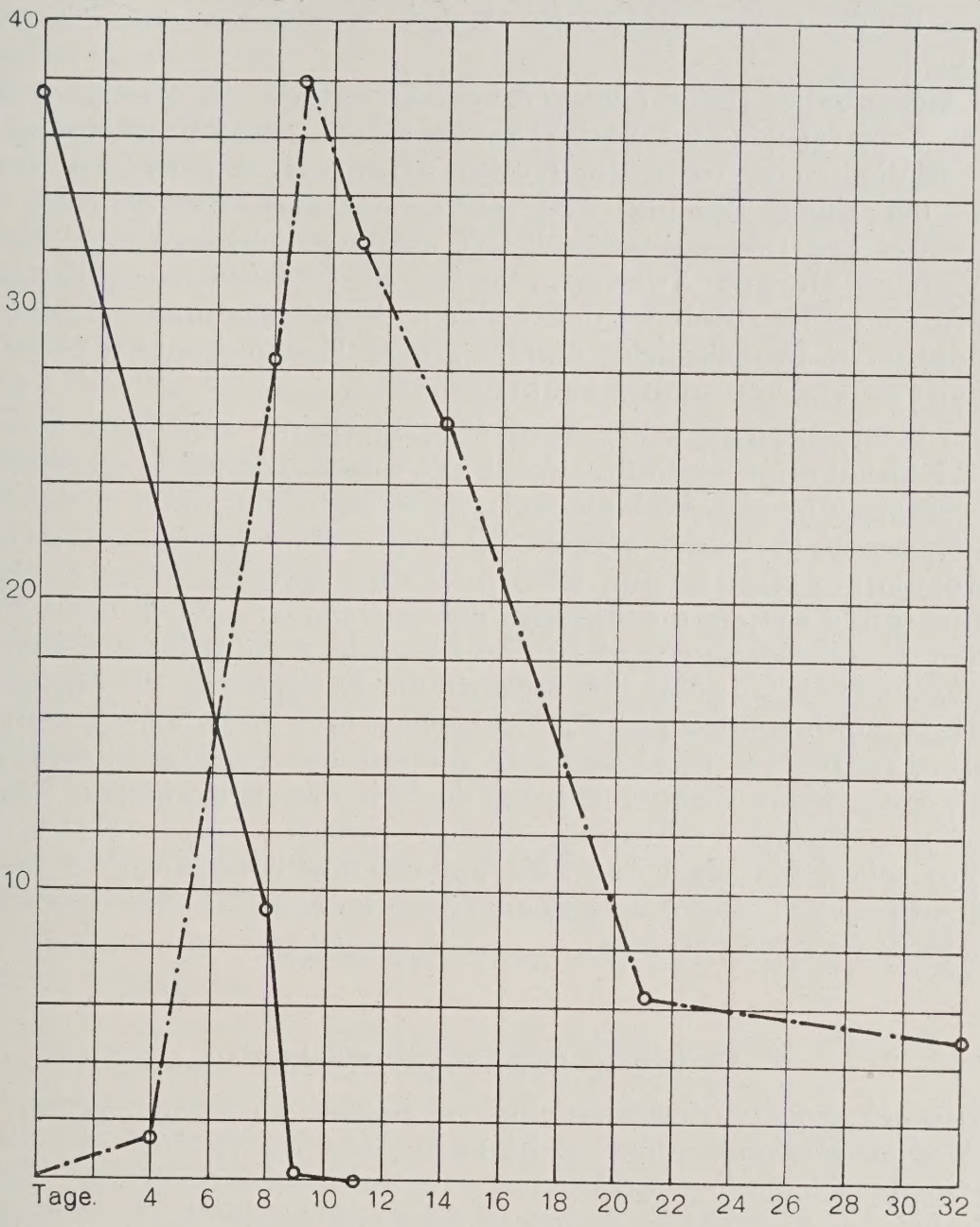


Fig. 129.

Mit einem scharfen Knick setzt hier wieder ein sehr langsamer Säurerückgang ein. Das Säuerungsmaximum fällt auch hier annähernd mit dem Alkoholverschwinden zusammen, wie die vollausgezogene Alkoholkurve erkennen läßt.

Die Menge der erzeugten Essigsäure ist bei den einzelnen Essigbakterienarten verschieden groß und scheint auch von äußeren Bedingungen, wie der herrschenden Temperatur, und vor allem von der Ernährung abhängig zu sein. Bacterium industrium erzeugt im

Maximum 2,7% Säure, Bacterium ascendens dagegen etwa 9% unter besonders günstigen Bedingungen. Bei beschränktem Sauerstoffzutritt kann eine Förderung der Essiggärung, besonders derjenigen durch Schnellessigbakterien, durch Zugabe von Kolloiden herbeigeführt werden. Nach Söhngen eignen sich dazu besonders Blutkohle, Filtrierpapier, Torf und Kieselsäure. Diese Förderung macht sich nicht in einer Erhöhung der Menge der gebildeten Essigsäure bemerkbar, sondern in einer Beschleunigung der Erreichung des Säuerungsmaximums.

In vielen Fällen findet eine Weiteroxydation der erzeugten Essigsäure zu Kohlendioxyd und Wasser statt. Diese Erscheinung tritt dann auffallend ein, wenn die Kultur alkoholfrei geworden ist; die Kurven der Figur 128 und 129 zeigen dies klar und deutlich. Der Stoffwechsel der Essigbakterien liefert stets eine größere oder kleinere Menge von Nebenprodukten, die für die verschiedenen Essigarten geradezu charakteristisch werden können. Wohl fast immer finden sich im Endprodukt in mehr oder minder großer Menge Acetaldehyd und Milchsäure und oft auch Bernsteinsäure.

Die Essiggärung selbst wird ebenfalls durch eine Reihe von äußeren Faktoren beeinflußt. Wohl alle Essigbakterien produzieren am besten Essigsäure aus Äthylalkohol, wenn sie etwas unter ihrem Temperaturoptimum gezüchtet werden. In diesem Sinne kann man von einem Temperaturoptimum der Essigbildung sprechen. Im direkten Sonnenlichte sistiert die Essiggärung fast immer. Auch die Vermehrung der Essigbakterien wird in diesem Falle zum Stillstand gebracht. Im zerstreuten Tageslicht verläuft die Essiggärung im allgemeinen sehr träge. Optimale Essiggärung beobachtet man im Dunkeln. Daß auch die ultravioletten Strahlen deletär auf die Essigbakterienoxydase wirken, kann nicht wundernehmen, da von den kurzwelligen Strahlen die meisten Enzyme schwer geschädigt werden. Auch elektrische Ströme sollen hindernd auf den Verlauf der Essiggärung einwirken. Dieselbe wird auch durch die sich anhäufenden Essigsäuremengen schließlich zum Stillstande gebracht.

2. Einteilung der Essigsäurebakterien.

Wie bei allen Bakterieneinteilungen reichen auch hier die rein morphologischen Merkmale dazu nicht aus. Man ist vielmehr gezwungen, auch zu physiologischen Merkmalen seine Zuflucht zu nehmen. Dies ist gerade bei den Essigbakterien um so schwieriger, als dieselben über eine durchaus nicht enge Variationsbreite verfügen. Die Zahl der mehr oder weniger unterschiedlichen Arten ist bereits sehr groß. Für eine Einteilung werden natürlich auch die praktischen Bedürfnisse berücksichtigt werden müssen. Hier kann nur ein Kompromiß vorläufig eine brauchbare Gruppierung der Essigsäurebakterien herbeiführen. In dieser Hinsicht wurden von verschiedenen Seiten Vorschläge gemacht, auf die einzugehen zu weit führen würde.

Die Einteilung Hennebergs fußt auf praktischen Erwägungen und stützt sich in erster Linie auf die natürlichen Fund- und Standorte der Essigbakterien. Sie sieht vier Gruppen vor:

a) Maische- oder Würzeessigbakterien,
b) Bieressigbakterien,
c) Weinessigbakterien,
d) Schnellessigbakterien.

Allerdings läßt sich die Trennung der Bakterien in diese Gruppen nicht vollkommen streng durchführen, doch scheint sie für die Praxis zu genügen. Entsprechend der besonders guten Verwendbarkeit einiger Arten für die verschiedenen Betriebe kann man dieselben als „Kulturessigbakterien" den „wilden Essigbakterien" gegenüberstellen; letztere sind für die Praxis entweder wertlos oder aber schädlich.

Lafar hat die Auflassung der Gruppe der Maische- oder Würzeessigbakterien und die Einreihung der Vertreter dieser Gruppe unter die Bieressigbakterien vorgeschlagen. Außerdem faßt er das Bacterium xylinum samt seinen verwandten Arten wegen der starken Hautbildung derselben zu einer neuen Gruppe der „Schleimessigbakterien" zusammen.

Im Anschlusse an eine Einteilung der Essigbakterien von Beijerinck hat Janke ohne Rücksicht auf praktische Gründe eine neue Gruppierung der Essigbakterien versucht. Er benutzt vornehmlich physiologische Merkmale zur Artabgrenzung, insbesondere die Fähigkeit der Arten, Essigsäure als Kohlenstoffquelle bei Anwesenheit von Ammonsalzen als Stickstoffquelle auszunützen. Janke faßt unter „haplotrophen Essigsäurebakterien" jene Arten zusammen, die auf der Nährlösung von Beijerinck gedeihen, also bei Gegenwart von Ammoniumsalzen mit Essigsäure als Kohlenstoffquelle das Auslangen finden. Dieser Gruppe stellt er die „symplotrophen Essigsäurebakterien" gegenüber, die ihren Kohlenstoffbedarf durch Essigsäure bei der Darreichung von Ammonsalzen als Stickstoffquelle nicht zu decken vermögen und daher auf der Beijerinckschen Nährlösung nicht wachsen.

Das von Janke daraufhin aufgestellte Schema einer Systematik der Essigsäurebakterien sei hier im Originalwortlaut[1]) angeführt:

I. **Haplotrophe Essigsäurebakterien**: auf Beijerincks Nährlösung deutliches Wachstum.

A. Schützenbach-Gruppe: auf flüssigen Nährsubstraten keine fadenziehenden oder zähschleimigen Hautbildungen.

B. Hansenianum-Gruppe: Auf flüssigen Nährmedien fadenziehende bis zähschleimige Hautbildungen; auf festen Nährböden graulichweiß durchscheinende, nasse, hohe Beläge. Kurzstäbchen einzeln oder gepaart, Eigenbewegung zeigend, mäßig säuernd.

II. **Symplotrophe Essigsäurebakterien**: auf Beijerincks Nährlösung kein deutliches Wachstum.

A. Rancens-Gruppe: mit Jodlösung gibt der Schleim auf was immer für einen Nährboden unter keinen Umständen Blaufärbung; Knorpelhäute werden nicht gebildet.

a) Untergruppe des Bact. aceti Hansen: leicht teilbare Häute, keine Eigenbewegung.

---

1) Janke, A., Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Essigbakteriologie usw. Centralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. 53, 1921, S. 85.

b) Untergruppe des Bact. aceti Brown: leicht teilbare Häute, Schwärmvermögen.
c) Untergruppe des Bact. albuminosum Lindner: in Bier fadenziehende Schleimmassen.

B. Pasteurianum-Gruppe: Mit Jodlösung unter gewissen Umständen Blaufärbung.
a) Untergruppe ohne Eigenbewegung.
b) Untergruppe mit Eigenbewegung.

C. Xylinum-Gruppe: knorpelzähe Hautbildungen.

Die folgende Darstellung der Gruppen von Essigbakterien stützt sich auf die von Henneberg vertretene Einteilung in vier Gruppen und soll nur die wichtigsten Vertreter ohne Anspruch auf Vollständigkeit etwas genauer charakterisieren.

A. Würze- oder Maischessigbakterien.

Zu den **Würze- oder Maischeessigbakterien** gehören alle jene Bakterienarten, die in Würze und Getreidemaischen auch ohne Alkohol Essigsäure zu bilden vermögen. In der Essigfabrikation spielen sie infolge ihres sehr geringen Säuerungsvermögens überhaupt keine Rolle. Sie sind in Hefefabriken, Brauereien und auch Brennereien häufig anzutreffen. Unter ihnen gibt es einige, die entschieden zu den Schädlingen dieser Betriebe gehören.

Zwei Arten sind hier vornehmlich zu nennen, Bacterium oxydans Henneberg und Bacterium industrium Henneberg.

Das Bacterium oxydans findet sich häufig in Flaschenbieren und konnte aus solchen der verschiedensten Provenienz gezüchtet werden. Die dünne, nur wenig gallertige Zoogloea dieser Art schiebt sich an den Glaswänden des Züchtungsgefäßes ziemlich hoch hinauf. In der-

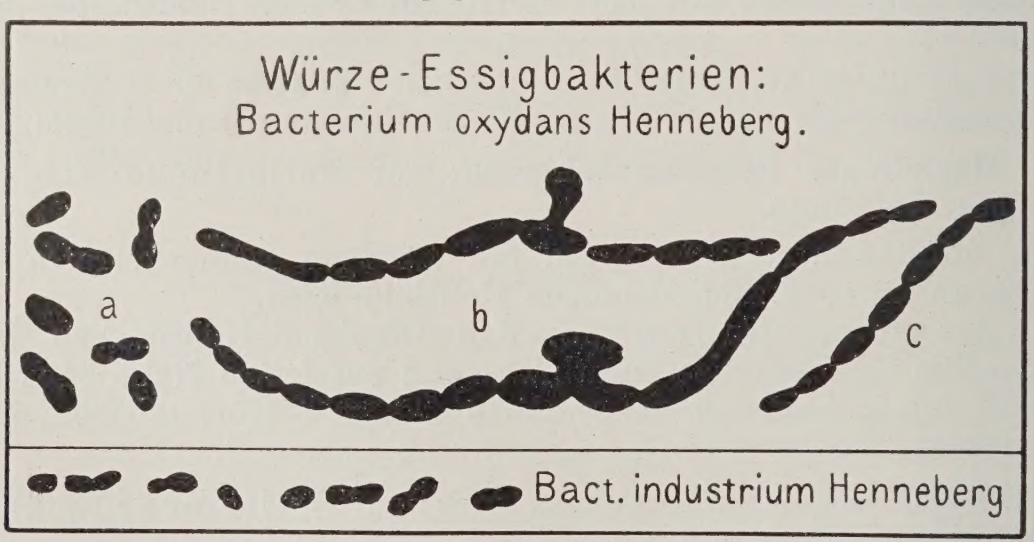


Fig. 130.

selben liegen die Zellen ziemlich gedrängt und können schon durch leichtes Schütteln in der Flüssigkeit verteilt werden. Die einzelnen Zellen der Bierkulturen sind ziemlich groß und plump und messen im Mittel 1 μ in der Breite und 2,5 μ in der Länge. Bei niederen Züchtungstemperaturen um 25° C stellt sich schon in kurzer Zeit ein Schwärmzustand der Zellen ein. Sie sind dann lebhaft beweglich

und trüben die ganze Flüssigkeit. Der Schwärmzustand dauert im allgemeinen bei den höheren Temperaturen bedeutend länger, wenn es auch etwas später erst einsetzt. Dann findet man auch Zellketten. In Figur 130 sind die typischen Wuchsformen dieser Bakterienart bei ca. 2000facher Vergrößerung nach Henneberg abgebildet. In *a* sehen wir die jungen einzelnen oder höchst zu zweit vereinten Schwärmzellen aus einer Bierkultur, in *e* eine Zellkette. Wie alle Essigbakterien, neigt auch diese zur Bildung von hypertrophischen Wuchsformen, die besonders bei höherer Temperatur und auf Zusatz von größeren Alkoholmengen und gewissen Salzen ausgebildet werden, sich aber auch spontan in alten Kulturen einstellen. Für diese Art typisch sind die langen Ketten und Fadenverbände, wie sie in *c* der Figur 130 gezeichnet sind, die meist mehr in der Mitte an einem Gliede einen knopfartig angeschwollenen Seitenzweig tragen. Mitunter treten diese gestielten Knöpfe auch dort heraus, wo zwei Zellen aneinanderstoßen und die Scheidewand geschwunden ist, wie es die Riesenwuchsform in der Abbildung bei *b* unten zeigt.

Die Kardinalpunkte für die Temperatur beim Wachstum liegen um 8°, zwischen 18 und 20° und 30—33° C.

Bacterium oxydans säuert die verschiedensten Kohlehydrate und Alkohole, besonders aber Maltose; in Hefewasserkultur mit einem Gehalt von 8% Maltose findet üppige Vermehrung statt und die Säuremenge erreicht dabei 4,6%.

Aus Alkohol bildet diese Bakterienart im besten Falle 2% Essigsäure, die sie aber nicht weiter verbrennt. Sie verträgt höchstens 7% Äthylalkohol in der Kultur.

Die zweite, von Henneberg untersuchte Würzeessigbakterienart ist das Bacterium industrium, das sich wiederholt in Preßhefen und auch in Brauereiwürze fand. Es besitzt kleinere Zellen als Bacterium oxydans. In Figur 130 sind unten einzelne und in Teilung befindliche Zellen aus der Zoogloea einer jungen Bierkultur nach Henneberg wiedergegeben. Die einzelnen Zellen messen meist 0,8—1,2 μ in der Breite und 1,6 und 1,8 μ in der Länge. Sie sind mehr rundlich und eiförmig.

Die von dieser Bakterienart auf Flüssigkeiten gebildeten Häute sind meist locker gefügt, dick nnd schleimig, sofern nicht Maltose oder Glyzerin der Nährflüssigkeit zugesetzt sind. Dann werden sie fester und trockener. Wo die Haut an das Glas grenzt, entsteht ein festerer, schleimiger Bakterienring. Diese Art neigt weniger zur Bildung der Riesenwuchsformen, obwohl man sie durch dieselben Maßnahmen, wie bei der vorgenannten Art, herbeiführen kann. Es entstehen dann dünne lange, kugelig aufgetriebene Formen, die nur in den seltensten Fällen, sozusagen ausnahmsweise knopfartig verdickte Seitenzweige tragen.

Bacterium industrium besitzt ebenfalls ein kürzere oder längere Zeit andauerndes Schwärmstadium.

Für das Wachstum liegt das Temperaturoptimum bei 23°, das Minimum bei 8° und das Maximum um 35° C. Für die Essiggärung sind die Kardinalpunkte der Temperatur 10°, 21° und 28°. Wir sehen, daß das Optimum und Maximum hier etwas tiefer liegt als dasjenige des Wachstums.

Auch diese Bakterienart erzeugt aus zahlreichen Alkoholen und Kohlehydraten Säure, was ganz besonders für Maltose gilt, so daß auch das Bacterium industrium imstande ist, Bierwürze kräftig zu säuern. Eigenartig ist das Verhalten dieses Bakteriums zu Dextrinlösungen, die es verschleimt und fadenziehend macht und in eine Masse verwandelt, die durch Erwärmen bei 30° zur Erstarrung gebracht wird.

Unsere Bakterienart bildet aus Alkohol höchstens 2,7% Essigsäure, wobei stets als Nebenprodukt Azetaldehyd wahrzunehmen ist. Sie vermag aber Essigsäure nicht weiter zu oxydieren.

B. Bieressigbakterien.

Zu den **Bieressigbakterien** können wir jene Essigbakterien rechnen, die sich als besonders widerstandsfähig gegenüber dem Hopfengift erweisen, Bier als natürlichen Standort besitzen und sich verhältnismäßig empfindlich gegen Essigsäure zeigen. Zu denselben gehört eine größere Anzahl von bekanntgewordenen Essigbakterien.

Bacterium aceti Hansen wurde von Hansen aus dänischem Bier reingezüchtet. Die Art wächst in den auf Bierkulturen entstehenden Häuten als kurzes, plumpes Stäbchen, das sehr regelmäßige Kettenverbände bildet. Bei der Zucht auf Würzegelatine sind die Zellen bedeutend größer und befinden sich weniger in Fadenverbänden. In der in Figur 131 gegebenen Zusammenstellung der Bieressigbakterien sehen wir in *a* einzelne Zellen des Bacterium aceti und kurze Ketten abgebildet, wie sie sich in der auf Bier entstehenden Zoogloea einstellen, während *b* den Stäbchen auf Würzegelatine entspricht. Ein Schwärmstadium konnte bisher bei dieser Bakterienart nicht beobachtet werden. Bei der Zucht in höheren Temperaturen entstehen auch hier riesige Zellfäden und hypertrophische Wuchsformen mit birnenförmigen Auftreibungen und Verzweigungen.

In den Kahmhäuten sitzen die Zellen nun sehr fest, weshalb die Flüssigkeiten von dieser Art nicht getrübt werden. Die feuchten und mehr schleimigen Häute erscheinen oft marmoriert. Sie kriechen an den Wänden des Kulturgefäßes nicht in die Höhe.

Die Kardinalpunkte für die Wachstumstemperatur liegen bei 4, 34 und 42° C. Die Bakterienart verträgt in der Kultur viel Alkohol, bis 11 Vol.-Proz. Sie bildet maximal 6,6% Essigsäure, von der sie einen Teil weiter zu oxydieren vermag.

Aus Leipziger Gose, einem obergärigen Bier, hat Henneberg das Bacterium acetosum Henneberg isoliert, dessen Wuchsgestalten in Figur 131 wiedergegeben sind. Die Stäbchen sind in jugendlichem Zustande bei der Zucht in Gose in *a* gezeichnet. Sie liegen in der fest zusammenhängenden, an den Wänden des Zuchtgefäßes nur wenig emporkletternden, weißlichen und glatten Kahmhaut in Kettenverbänden. Bei der Zucht dieser Art auf Würzegelatine (*b* der Figur 131) oder in untergärigem Bier (*c* der Figur 131) sind die Zellen meist etwas größer und gedrungener. Sie scheinen kein Schwärmstadium zu besitzen.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt um 28° C, das Minimum bei 8° C und das Maximum bei 36°. Wie das Bacterium aceti verträgt auch diese Art 11 Vol.-Proz. Alkohol in der Kulturflüssigkeit und erzeugt im besten Falle 6,6% Essigsäure, von der

kleine Mengen weiterverbrannt werden. Außerdem bildet sie Ester, weshalb der Essig einen aromatischen Geruch aufweist. Ihren vorteilhaften Eigenschaften entsprechend dürfte sich diese Art für den Bieressigbetrieb gut eignen.

Hier ist dann zu nennen das von E. Chr. Hansen aus obergärigem dänischen Bier reingezüchtete Bacterium Pasteurianum Hansen, dessen Zellformen in Figur 131 wiedergegeben sind. Die Entstehung der

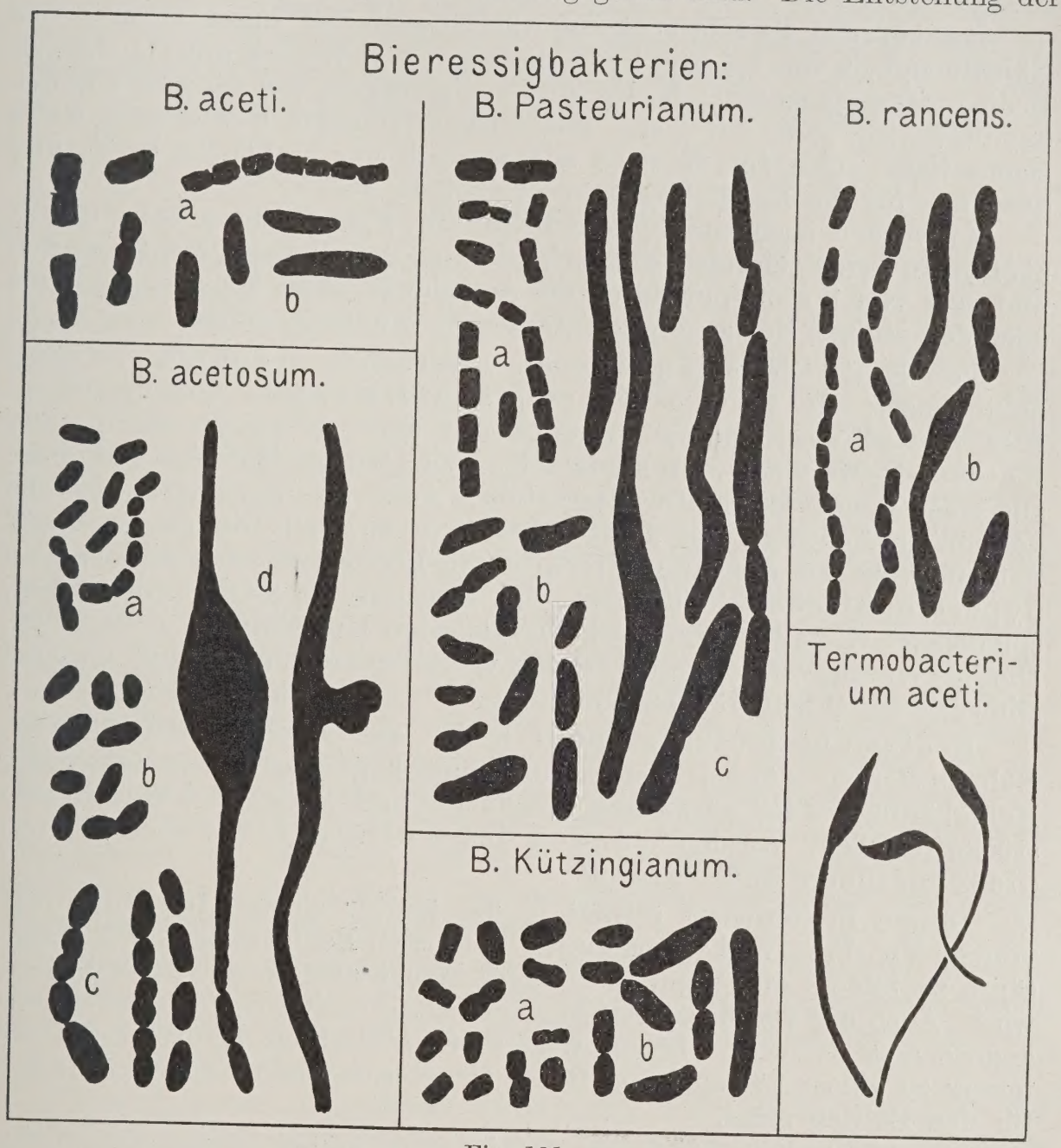


Fig. 131.

Riesenwuchsformen (Figur 131 *c*) und ihre Umbildung in Kurzstäbchen haben wir schon früher kennen gelernt (vgl. S. 24). In der auf Bier entstehenden, ziemlich dicken, faltigen und marmoriert aussehenden Kahmhaut sind die großen, gedrungenen Zellen in Ketten vereint (*a* Figur 131). Bei der Zucht auf Würzegelatine sind die Zellen größer und weniger regelmäßig gestaltet, wie es *b* der Figur 131 zeigt. Die Kahmhaut selbst ist festgefügt, weshalb die Flüssigkeiten vollständig klar bleiben. Im allgemeinen besteht eine große Ähnlichkeit zwischen dieser Art und der

vorgenannten; sie unterscheiden sich aber durch die Eigenschaft der verschleimten Zellwände des Bact. Pasteurianum, sich bei der Behandlung mit Jodlösungen blau zu färben, was man bei Bacterium acetosum nicht beobachtet. Übrigens tritt diese Farbenreaktion nur dann auf, wenn man in Bier züchtet.

Für das Wachstum liegt das Temperaturoptimum bei 34°, das Maximum bei 42° und endlich das Minimum bei 5° C.

Bacterium Pasteurianum wächst auch bei einem Gehalte der Nährflüssigkeit von 9,5 Vol.-Proz. Alkohol und vermag unter günstigen Bedingungen bis zu 6,2% Essigsäure zu erzeugen, von der nichts weiter oxydiert wird. Der mit dieser Bakterienart erzeugte Essig weist einen eigenartigen, scharfen Geruch auf, weshalb eine praktische Bedeutung desselben für die Essigfabrikation zweifelhaft ist.

Es wurden noch einige, dem Bacterium Pasteurianum sehr nahestehende Arten gefunden, die als Varietäten derselben angesehen werden und sich von ihr oft nur durch die Ausbildung eines Schwärmstadiums oder den Mangel der genannten Jodreaktion unterscheiden.

Von Emil Christian Hansen wurde noch eine dritte Bieressigbakterienart, Bacterium Kützingianum Hansen, aus dänischem Bier reinkultiviert, deren Zellen klein und ohne Neigung zur Kettenbildung sind. In Figur 131 *a* sehen wir die einzelnen Bakterien aus einer jungen Bierkultur dargestellt. Auch bei ihnen färbt sich die verquollene Zellwand mit Jodlösungen blau. Wir finden bei dieser Art auch nur in geringem Grade die Eigenschaft der Bildung von hypertrophischen Zellformen, die hier nur in stark verlängerten, spindeligen Gestalten und stark vergrößerten Kugelbildungen bestehen. Die in Würzegelatine gezüchteten Zellen besitzen überhaupt größere Dimensionen (Figur 131 bei *b*).

Bacterium Kützingianum bildet auf alkoholischen flüssigen Nährsubstraten dünne, wenig zusammenhängende, etwas schleimige Kahmhäute, die bei schwachen Erschütterungen schon in kleine Bruchstücke zerfallen. An den Wänden des Kulturgefäßes ziehen sich die Zoogloeen hoch hinauf.

Unsere Bakterienart erträgt in der Kultur einen Alkoholgehalt von 9,5 Vol.-Proz. und vermag unter optimalen Bedingungen 6,6% Essigsäure zu bilden, die, wenn in geringer Menge anwesend, weiteroxydiert wird. Auch der von dieser Art erzeugte Essig besitzt einen scharfen, unangenehmen Geruch. Schon wegen der schlechten Hautbildung, die immer zu einem trüben Essig führt, eignet sich diese Essigbakterienart für den Betrieb nicht.

Das Bacterium rancens Beijerinck umfaßt einige Varietäten. Die typische Art desselben stammt aus obergärigem Bier und wird in Holland bei der Bieressigerzeugung benutzt. Es handelt sich bei dieser Art um meist in Ketten vereinte Kurzstäbchen, wie es auch unsere Abb. 131 in *a* aufweist. Bei der Zucht auf Würzegelatine entstehen größere Formen, entsprechend *b* der zitierten Abbildung. Die von dieser Art auf Bier erzeugte Kahmhaut ist faltig, trocken und sehr zusammenhängend, weshalb es zu keinen nennenswerten Trübungen der Flüssigkeiten kommt. Die einzelnen Varietäten bilden kräftig Essigsäure und verarbeiten sie zum Teil weiter.

Bei den Bieressigbakterien ist noch das Termobacterium aceti Zeidler zu nennen. Dasselbe stammt aus dem Bodensatz eines Flaschenbieres. Es bildet sehr zarte, hoch an den Wänden des Zuchtgefäßes emporsteigende Kahmhäute, die sich außerordentlich leicht durch leises Schütteln in der Flüssigkeit verteilen lassen. Deshalb und weil die Zellen überdies ein Schwärmstadium besitzen, treten in den flüssigen Nährsubstraten immer Trübungen auf. Die Art neigt zur Bildung abnormer Zellformen, wobei Fädenverbände mit aufgeschwollenen Enden entstehen, wie es auch in Figur 131 wiedergegeben ist. Es bildet von allen näher bekannten Bieressigbakterienarten am wenigsten Essigsäure (6%) und verträgt auch nur geringere Mengen Alkohol in den Nährsubstraten (9%).

C. Weinessigbakterien.

Zu den **Weinessigbakterien** rechnet man nun jene Essigbakterienarten, welche sich meist spontan bei der Weinessiggärung einstellen. Sie alle sind dafür keinesfalls gleich gut brauchbar. Manche von ihnen müssen geradezu als Schädlinge bezeichnet werden. Man verlangt von ihnen ein großes Säuerungsvermögen und die Fähigkeit der Erzeugung von Bukettstoffen. Auch müssen sie gut zusammenhängende Kahmhäute erzeugen, damit Trübungen des fertigen Essigs nicht auftreten. Die wenigen Arten, die sich durch die genannten Eigenschaften auszeichnen, faßt man als „Kulturweinessigbakterien" zusammen und stellt sie den wertlosen und schädlichen wilden Weinessigbakterien gegenüber. Die oben aufgestellten Forderungen können aber nur für die bei den Orleansverfahren tätigen Essigbakterien aufrecht bleiben, wo es sich also um ruhig stehende Gärflüssigkeiten handelt. Die Essigbakterienflora in den Michaelischen Drehfässern und bei der Weinessigbereitung in Schnellessigbildnern muß den dort herrschenden Bedingungen entsprechend anders geartet sein. Hier finden wir aus diesem Grunde auch bei der Weinessiggärung Vertreter der später zu besprechenden Schnellessigbakterien tätig. Auch bei der spontanen Essiggärung von Obstwein und Wein im Hausbetriebe finden wir verschiedene Arten, die mitunter keineswegs allen Ansprüchen, die wir an Essigbakterien stellen, gerechtwerden.

Die meisten Weinessigbakterien neigen nicht sehr zur Ausbildung hypertrophischer Wuchsformen. Diese Eigenschaft besitzt wohl im geringsten Grade das von Fuhrmann reingezüchtete Acetobacter plicatum.

Acetobacter plicatum Fuhrmann ist eine Bakterienart, die aus spontan sauer gewordenem Wein isoliert wurde und ihren natürlichen Standort anscheinend in der Presse und im Keller hatte, in dem derselbe gekeltert wurde. Es ist eine verhältnismäßig kleine Stäbchenbakterienart, die kein Schwärmstadium besitzt und auf verdünntem und unverdünntem Wein eine allerdings nicht sehr dicke, aber gut zusammenhängende und feste Haut bildet, in der die Zellen fest sitzen. Näheres über die Kahmhäute, deren Struktur und Entstehung haben wir früher auf Seite 342 erwähnt. Eine regelmäßige Anordnung der Zellen zu Kettenverbänden finden wir darin nicht. In *a* der Figur 132, die eine Zusammenstellung der wichtigsten Weinessigbakterien bei 2000facher Vergrößerung

enthält, sehen wir die einzelnen Zellen. Höhere Temperaturen führen zur Bildung von ungegliederten und gegliederten längeren Zellfäden, an denen Auftreibungen und Anschwellungen zu seltenen Befunden zählen. Dazu

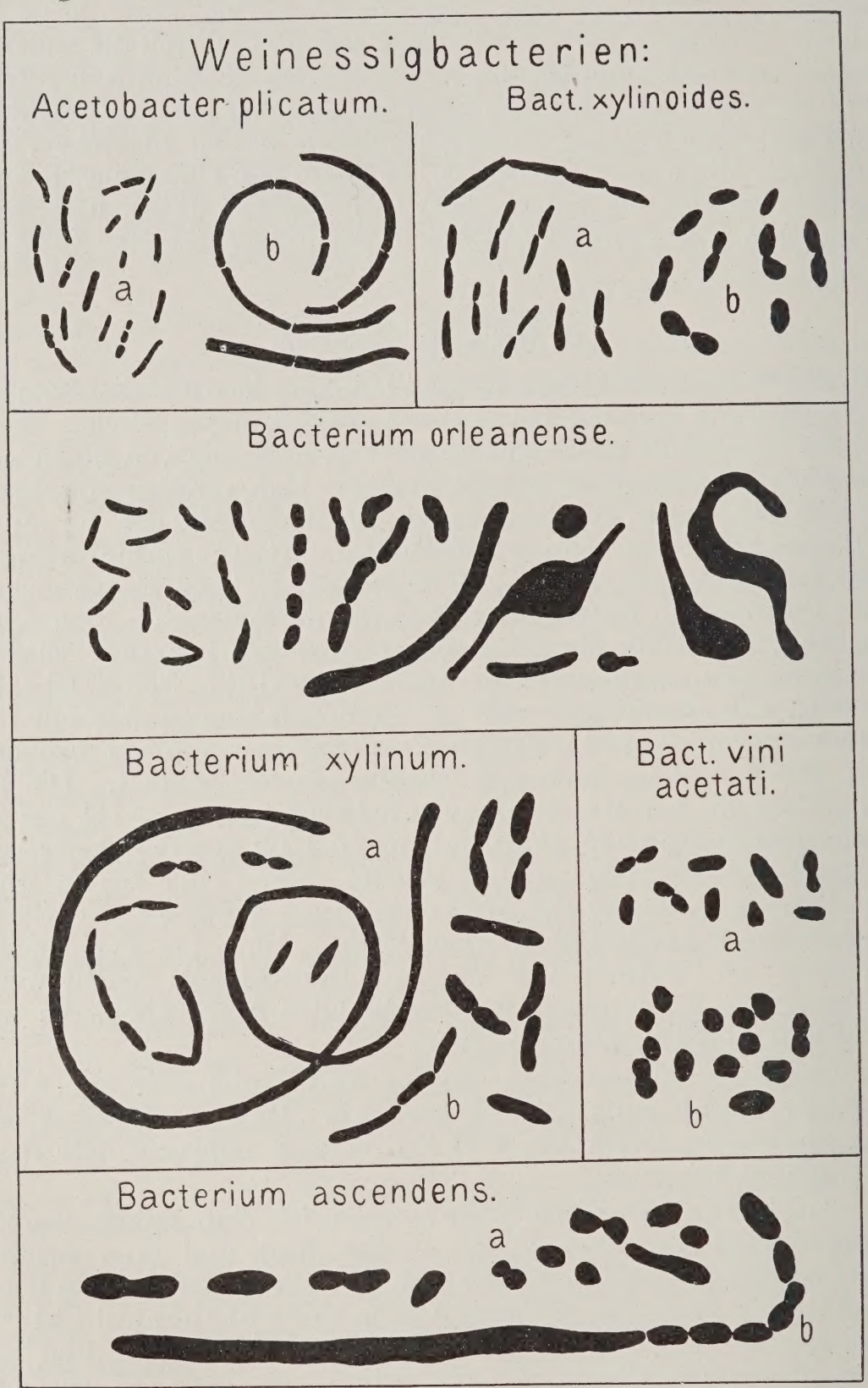


Fig. 132.

muß allerdings bemerkt werden, daß die Zellen im allgemeinen vergrößert sind. Figur 143 *b* zeigt solche vergrößerte und zu Fäden ausgewachsene Stäbchen.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum in alkoholhaltigen Nährsubstraten liegt um 25°, das Maximum um 40° und das Minimum bei etwa 8° C.

Die Bakterienart verträgt im Wein einen Alkoholgehalt von 10—11 Gewichts-Proz. und erzeugt im Maximum 7,5% Essigsäure, von der nach längerer Zeit ein kleiner Teil weiter oxydiert wird.

Bacterium xylinoides Henneberg wurde aus dem Essig von zwei Fabriken in Berlin und in der Folge auch aus anderen Betrieben gezüchtet. Die Zellen dieser Art sind verschieden gestaltet, kürzer und länger, gestreckt oder leicht gekrümmt, und haben mehr zugespitzte oder auch runde Enden, wie es in *a* der Figur 132 zur Darstellung gebracht ist, wenn auf flüssigen, alkoholhaltigen Nährsubstraten gezüchtet wird, z. B. Bier. In der Kultur auf Würzeagar sind die Stäbchen kürzer und dicker und mehr abgerundet, wie man aus *b* der Figur 132 ersieht. Schwärmzellen fehlen.

Auch die von dem Bacterium xylinoides auf Flüssigkeiten gebildete Kahmhaut hat ein sehr verschiedenes Aussehen. Wenn sie dünn und trocken ist, spricht man von einer „Seidenpapierhaut". Ist sie dagegen mäßig dick und zäh, so bezeichnet man sie als Lederhaut oder „Xylinumhaut", während die von dieser Art gebildete „Flockenhaut" aus einzelnen, weniger zusammenhängenden Inseln besteht und mehr schaumig, schleimig ist. Auf den Weinessigmaischen erzeugt diese Art meist die Seidenpapierhaut, die in älteren Stadien eine faltige Oberfläche aufweist. Die Xylinumhaut reagiert auf Jod und Schwefelsäurezusatz mit Blaufärbung, wodurch aber nicht etwa für die Haut bewiesen ist, daß sie aus Zellulose besteht, was übrigens auch nicht der Fall ist.

Für die Zucht in unverdünnten Weinessigmaischen liegt das Temperaturoptimum um 26° C, das Maximum um 32° und das Minimum bei etwa 8°. Die größte Menge gebildeter Essigsäure war 8%.

Aus einem Schnellessigbildner der Versuchsessigfabrik des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin isolierte Henneberg das Bacterium orleanense, das für die Weinessiggewinnung nach dem Orleansverfahren sehr brauchbar zu sein scheint. Die Zellen dieser Art sind denjenigen des Bacterium xylinoides sehr ähnlich, wie ein Vergleich in Figur 132 es sofort dartut. Dies gilt auch für die Zucht auf Würzeagar. In älteren Würzegelatinekulturen findet man große, blasige, kugelige, kurz hypertrophische Formen, wie es Figur 132 rechts aufweist. Schwärmzellen konnten auch bei dieser Art nicht nachgewiesen werden.

Bacterium orleanense bildet auf Flüssigkeiten ebenfalls verschieden gestaltete Zoogloeen, die mitunter die Neigung zum Emporklettern an den Wänden des Züchtungsgefäßes aufweisen. Im allgemeinen werden aber Seidenpapierhäute erzeugt. Der Zusammenhang in denselben ist fest, so daß Trübungen des Essigs fast nie vorkommen. Ältere Häute sind zart gefaltet und machen den Eindruck von zusammengeknittertem Seidenpapier. Noch später sind sie etwas mehr durchfeuchtet und dicker, weshalb sie ein schleimigeres Aussehen bekommen. In Weinkulturen beobachtet man meist auch eine rötlichbraune Färbung der Zoogloeen, die bei der Zucht in hellem Rotwein rosa ist.

Die bei dieser Art beobachtete größte Essigsäuremenge betrug 9,3%.

Zu den Weinessigbakterien gehört auch das außerordentlich weit verbreitete Bacterium xylinum Brown, dessen Auftreten in Essigfabriken sehr unerwünscht ist. Die die Häute zusammensetzenden Zellen sind kürzere und längere, häufig etwas gekrümmte Stäbchen, die zahlreiche Fadenbildungen erzeugen und auch hypertrophische Formen aufweisen. In Figur 132 *a* sind die Gestalten wiedergegeben, die sich gewöhnlich in den auf Bier entstehenden Kahmhäuten finden. Besonders charakteristisch für die Art sind die spiralig gewundenen langen Fäden, an denen man meist keine Gliederung mehr wahrnimmt. Schwärmzellen scheinen vollkommen zu fehlen. Auf Würzegelatine gezüchtet sind die Zellen ebenso unregelmäßig in bezug auf ihre Form, aber im allgemeinen vergrößert, wie es *b* der Figur 132 aufweist.

Bacterium xylinum ist auch durch seine derben, sehr schwer zerreißlichen Zoogloeen gekennzeichnet, die beim Entstehen auf Flüssigkeiten eine weiße, milchige Farbe zeigen und oft ungeheure Dimensionen annehmen, wie wir schon früher hörten. Auch sie geben mit Jod und Schwefelsäure meist, aber nicht immer, die Zellulosereaktion, werden dabei also blau gefärbt.

Diese Bakterienart ist für Alkohol ziemlich empfindlich, denn sie kann bei 7 Vol.-Proz. Gehalt sich nur mehr sehr spärlich entwickeln. Sie bildet auch wenig Säure und würde in dieser Hinsicht den Bieressigbakterien näher stehen, denn als Maximum an Essigsäure wurde 4,5% festgestellt. Sie oxydiert auch kräftig die gebildete Essigsäure weiter und erzeugt Nebenprodukte, durch die der Essig einen scharfen und unangenehmen Geschmack und Geruch bekommt. Deshalb wird sie mit vollem Rechte als Schädling in der Essigfabrik und Essigindustrie gefürchtet.

Das Bacterium vini acetati Henneberg wurde von Henneberg aus einer größeren Berliner Weinessigfabrik gewonnen. Die Zellen desselben sind bei der Zucht in Bier klein und rundlich oder gestreckt, wie es aus *a* der Figur 132 zu entnehmen ist. Würzegelatinekulturen enthalten größere, mehr kugelige oder ovale Formen, wie *b* der genannten Abbildung zeigt. Auch hier fehlen Schwärmzustände unter allen Bedingungen.

Die von dieser Art hervorgebrachten Kahmhäute auf den Flüssigkeiten sind wenig zusammenhängend und von lockerem Gefüge, weshalb sich die Flüssigkeiten leicht trüben. Diese Trübungen verschwinden allerdings später vollkommen. Auf der Weinessigmaische entsteht eine dünne, feuchtglänzende Haut von leicht bräunlicher Farbe, die sich im Alter dunkler bis schwarz färbt und einen festeren Zusammenhang erhält. Die festesten Häute werden auf verdünnter Weinessigmaische hervorgerufen, weshalb sich auch diese Art noch gut in der Weinessigfabrikation verwenden läßt.

Technisch vollkommen unbrauchbar ist aber das Bacterium ascendens Henneberg, dessen Fundort trüber Weinessig war, obwohl es sehr gut säuert und große Alkoholmengen verträgt. Die größte Essigsäuremenge wurde mit 9% bestimmt.

Die Zellen desselben, die in Figur 132 abgebildet sind, haben eine ovale Gestalt und sind groß, wenn sie aus Häuten stammen, die auf Bier entstanden sind (*a*). Die Kulturen auf Würzegelatine enthalten neben den kurzen Formen noch dicke und lange Zellfäden, wie *b* der Figur 132

zeigt. Besonders in Hefewasserzuchten entstehen hypertrophische Zellgestalten, die Seitenäste mit langgestielten knopfförmigen Anschwellungen aufweisen. Schwärmer werden nicht gebildet.

Die von Bacterium ascendens auf Flüssigkeiten erzeugten Häute sind zart und durchaus gleichmäßig ohne besondere Struktur und klettern sehr hoch an den Gefäßwänden empor. Beim Schütteln zerfallen sie leicht und bilden dann nach dem Absetzen einen feinflockigen Bodensatz, während die feineren Teile derselben eine Trübung hervorrufen. Wegen dieser ungünstigen Hautbildung kann diese Art keine technische Verwendung finden, wie schon oben bemerkt wurde.

D. Schnellessigbakterien.

Die Gruppe der **Schnellessigbakterien** umfaßt Kulturrassen von Essigbakterien, die sich durch äußerst minimale Hautbildung auszeichnen und dabei ein sehr großes Säuerungsvermögen aufweisen. Mit ihnen sind ja die Buchenholzspäne der Schnellessigbildner reichlich besiedelt. Dort sitzen sie infolge sehr geringer Schleimbildung fest und füllen besonders die geöffneten Holzfasern aus. Von einem schleimigen Überzuge, der sich schon beim Betasten der Späne bemerkbar macht oder gar sichtbar ist, kann hier nicht die Rede sein. Bei der Zucht in Flüssigkeiten können sie allerdings nach längerer Zeit kleine Hautinselchen an der Oberfläche erzeugen, aber zu einer ausgesprochenen Hautbildung kommt es niemals. In bezug auf die Ernährung sind die Schnellessigbakterien sehr anspruchslos im Vergleich zu den anderen Essigbakterien. Es handelt sich hier wohl kaum um ursprüngliche Arten, sondern vielmehr um besonders angepaßte Varietäten, weshalb wir auch oben von Rassen gesprochen haben. Im Laufe der Zeit sind dann diese durch fortdauernde Anpassung geschaffenen Eigenschaften in hohem Maße dauernd geworden.

Die Zahl der durch Henneberg bekannt gewordenen Schnellessigbakterien ist gering.

Als Typus dieser Bakterien kann das Bacterium Schützenbachi Henneberg gelten. Die Zellen desselben sind lang und schmal und meist etwas gekrümmt, wie es *a* der Figur 133 zeigt, wo solche aus einer alten Würzegelatinekultur abgebildet sind, während sie eine kurze gedrungene Form aufweisen, wenn sie unter natürlichen Verhältnissen auf dem Buchenholzspane im Schnellessigbildner sich entwickeln. In alten Würzegelatinekulturen treten auch zahlreich Kristalle von oxalsaurem Kalk auf. Größer und breiter sind die Formen in jungen Würzegelatinekulturen, was auch aus *b* der Figur 133 zu entnehmen ist. Ein Schwärmstadium wurde bei dieser Bakterienart bisher nicht beobachtet.

Auf Nährflüssigkeiten kommt es bei Bacterium Schützenbachi nur zur Bildung sehr zarter, gar nicht zusammenhängender Häute. Meist entstehen zuerst kleine Inselchen, die dann zu einer locker verbundenen Haut verwachsen. Leise Erschütterungen bringen dieselbe schon zum Zerfall, wobei sie fast pulverig zu Boden sinkt.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum liegt bei 25—27,5° C, wenn zur Zucht Essigmaische verwendet wird. Bei der Zucht auf Würzegelatine liegt es um ungefähr zwei Grade höher.

In unverdünnter Essigmaische mit Zusätzen von Getreidemaische werden im Maximum nach 66 Tagen 10,9% Essigsäure gebildet. Beim Versuch im großen mit dieser Bakterienart unter Anwendung steriler Buchenspäne entstehen als größte Essigsäuremenge 11,5%. Es ist das allerdings weniger, als in Bildern ohne Reinkultur entsteht, wo man durch geeignete Maßnahmen nach langsam größer werdenden Alkoholgaben 14—15% Säure erhalten kann. Warum die Reinkultur weniger säuert, ist noch nicht völlig klargestellt. Henneberg meint, daß durch die Sterilisation der Späne eine Verminderung der in ihnen vorhandenen Nährmaterialien herbeigeführt wird, woran gewiß zu denken ist. Außerdem müßte noch die Tätigkeit von Begleitbakterien in Erwägung gezogen

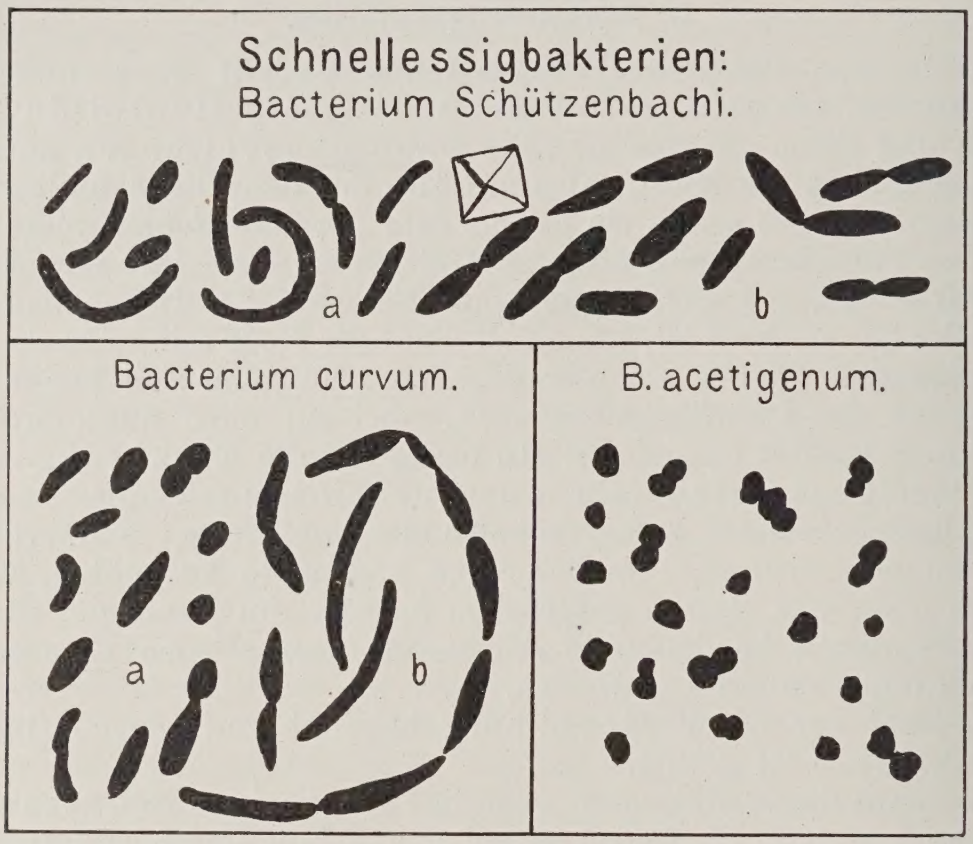


Fig. 133.

und untersucht werden, da es keineswegs ausgeschlossen ist, daß letztere auf die Ernährung der Kulturschnellessigbakterien einen günstigen Einfluß ausüben.

Die zweite, typische Kulturschnellessigbakterie ist das Bacterium curvum Henneberg. Die Zellen desselben sind in flüssigen Nährsubstraten meist ein wenig gekrümmt und besitzen dementsprechend wegen den meist leicht zugespitzten Enden eine sichelförmige Gestalt. In Figur 133 *b* sind Formen gezeichnet, wie sie auf Würze mit Alkoholzusätzen entstehen. Hier sehen wir auch eine kurze Kette mit längeren und kürzeren Gliedern. Bei der Zucht auf Würzegelatine bilden sich neben normal gekrümmten Stäbchen auch zahlreiche kleinere, rundliche und unregelmäßige Formen aus, wie auf Figur 133 in *a* zu sehen ist. Auch dieser Bakterienart fehlt ein Schwärmstadium.

Bacterium curvum besitzt ein hohes Temperaturoptimum für sein Wachstum in Essigmaischen, wo es zwischen 25 und 36,5° C liegt.

Die von dieser Bakterienart auf Nährlösungen gebildeten Kahmhäute sind sehr zart und dünn ohne jeglichen festeren Zusammenhang. Sie bestehen aus zahlreichen weißen Inseln, die beim Umschütteln an der Wand des Kulturgefäßes hängen bleiben. An der Berührungsstelle des Glases mit der Flüssigkeitsoberfläche kommt es zur Bildung eines Bakterienringes. Nur in Weinessigmaischen werden etwas zusammenhängende Häute erzeugt, so daß eine Trübung derselben ausbleibt.

Die dritte Schnellessigbakterienart, die Henneberg aus einer Schnellessigfabrik in Halle erhielt, ist das Bacterium acetigenum Henneberg. Die Zellen dieser Art sind mehr oval oder rundlich und klein. Figur 133 zeigt dieselben aus einer auf Bier in zwei Lagen gebildeten Kahmhaut. Die Kurzstäbchen zeigen keine Neigung zur Kettenbildung. Auch hypertrophische Zellformen finden sich selten, wie bei allen Schnellessigbakterien. Bacterium acetigenum besitzt ein Schwärmstadium.

Die von dieser Art auf flüssigen Nährsubstraten, wie z. B. Bier, hervorgebrachten Zoogloeen sind mattglänzend und dünn, weisen aber einen festeren Zusammenhang auf, so daß beim Schütteln die ganze Haut untersinkt, ohne zu zerfallen. Sie zeigen übrigens große Verschiedenheiten in der Stärke und Konsistenz, die auf geänderte Ernährungsbedingungen zurückgehen. Henneberg bezeichnet die dünne, feste Haut als „Gaze- oder Schleierhaut". Wenn trotzdem eine Trübung der Flüssigkeit zu beobachten ist, so ist dieselbe auf die Schwärmzellen dieser Art zurückzuführen.

Das Temperaturoptimum für die Essigsäurebildung liegt bei 33° C. Bacterium acetigenum erzeugt nur 3,5% Säure und daneben reichlich Bukettstoffe (Ester). Es findet auch eine ausgiebige Weiterverbrennung der Essigsäure zu Kohlendioxyd und Wasser statt. Wegen des geringeren Säuerungsvermögens und der Weiteroxydation der gebildeten Essigsäure ist diese Art technisch nicht verwertbar.

3. Die Essigsäurebakterien im Betrieb.

Die einfachste Art der Herstellung von Speiseessig wird im Hausbetrieb geübt. Sie besteht im wesentlichen darin, daß sich in alkoholhaltigen Rückständen und Resten von Wein, Apfelmost u. dgl. spontan Essigsäurebakterien ansiedeln und die Säuerung vornehmen. Meist handelt es sich dabei um hautbildende Bakterien, die eine mehr oder minder zähe und dicke Essigmutter ausbilden. Die Erfahrung hat auch gelehrt, daß sich diese Säuerung an wärmeren und dunklen Orten besser vollzieht, weshalb man die Essiggefäße auch dementsprechend in Küchen aufstellt.

Für das Zustandekommen der Infektion mit Essigbakterien kommen in erster Linie die sogenannten Essigfliegen in Frage, die sich überall dort sofort einstellen, wo alkoholhaltige essigsaure Flüssigkeiten offen stehen. In den Essigfabriken können sie dadurch sehr unangenehm werden, daß sie Verunreinigungen des Essiggutes herbeiführen. Sie verschleppen ständig massenhaft Essigbakterien und bewirken so meist die spontane Infektion von alkoholhaltigen, offen stehenden Flüssigkeiten mit Essigbakterien. Zwei Vertreter von Essigfliegen sind genauer bekannt, die kleine Essigfliege, Drosophila fenestrarum und die große Essigfliege, Drosophila funebris. Erstere besitzt etwa ½—⅓ der

Größe einer gewöhnlichen Stubenfliege, eine gelbbraune Körperfarbe und zinnoberrote Augen. In der warmen Jahreszeit findet sich diese Fliege in jeder Essigfabrik, Hefefabrik, Brennerei, Saftpresserei usw. massenhaft. Die Eier werden von diesen Fliegen immer dort abgelegt, wo die schon nach wenigen Stunden auskommenden Larven oder Maden Schimmelrasen, Kahmhefen und Essigbakterien als Nahrung vorfinden. Nach 5—10 Tagen verpuppen sich die Larven. Das Puppenstadium dauert 3—11 Tage. Dieses rasche Durchlaufen der Entwicklungszustände vom Ei zur Fliege hat das mitunter massenhafte Auftreten dieser Essigfliegen zur Folge.

Die große Essigfliege ist fast doppelt so groß wie die kleine und weist eine dunkelrotbraune Färbung auf. Auch sie entwickelt sich mitunter massenhaft, bevorzugt aber in erster Linie faulende Substanzen, wie verschimmeltes Getreide, naßfaule Kartoffeln u. dgl.

Im Hausbetrieb hat man auch bald erkannt, daß gewisse Essigmuttern einen besonders guten Essig geben. Deshalb überträgt man beim Neuansatz von Essigbildnern häufig Stücke solcher Essigmuttern in die neue zu vergärende Flüssigkeit.

Auf Grund dieser alten Erfahrungen hat sich auch die Essigindustrie entwickelt. In früheren Zeiten hielten die Essigerzeuger ihre Rezepte für den Betrieb streng geheim. Im allgemeinen gabelte sich die industrielle Essigerzeugung sehr früh in zwei Richtungen. Zuerst entwickelten sich jene Verfahren, bei denen sich in ruhig stehenden alkoholischen Getränken, wie Bier, Wein usw., an der Oberfläche Häute ansiedelten, in denen die eigentlichen essigbildenden Mikroben vegetieren. Auf diese Weise wurde in den Gegenden von Orleans seit langem aus Wein ein vortrefflicher Essig hergestellt. Danach bezeichnete man jede auf diese Weise durchgeführte Essigbereitung als „Orleansverfahren".

Bei dem älteren Orleansverfahren benutzte man große, 2—4 Hektoliter fassende Fässer aus Eichenholz, die oben zahlreiche Luftlöcher trugen. Diese Fässer wurden in den auf 20—25° temperierten Essigstuben aufgestellt. Beim Anstellen der Gärung füllte man diese Fässer bis etwa zu einem Drittel mit fertigem guten und siedendheißen Weinessig. Nach dem Erkalten dieser Füllung wurden noch 10—12 l Wein nachgegossen. In kurzer Zeit bildete sich an der Oberfläche dieses Weinessiggemisches eine Essigmutter aus, durch die die Essigbildung durchgeführt wurde. Nach Verlauf von ungefähr einer Woche setzte man abermals eine neue Menge von 10—12 l Wein zu und wiederholte diese Weinzusätze in diesen Intervallen so lange, bis der Essigständer etwa bis zu vier Fünftel gefüllt war. Dann heberte man ungefähr $^2/_3$ des entstandenen Essigs als fertiges Produkt ab und begann neuerlich mit den Weinzusätzen in den angegebenen Zwischenräumen.

L. Pasteur begründete nun das neue Orleansverfahren, bei dem in das Essiggut unmittelbar ein Stück einer besonders günstig arbeitenden Essigmutter übertragen wird. Hier infiziert man den Wein bereits mit erprobten Essigbakterien. Es ist darin der Anfang eines Reinkulturverfahrens in der Essigerzeugung gegeben. Bei diesem neuen Verfahren werden die Fässer beim Ansetzen mit einer Lösung gefüllt, die 1% Weinessig, 2% Alkohol und sehr geringe Mengen von Ammonphosphat, phosphorsauren Alkalien und alkalischen Erden enthält. Nachdem nach Verimpfung der Essigmutter diese Ansatzflüssig-

keit sich in voller Essiggärung befindet, setzt man täglich kleine Mengen von Wein oder Bier mit einem Alkoholzusatz oder Alkohol allein zu. Um eine bessere Ernährung der Essigbakterien zu ermöglichen und dadurch die Gärkraft derselben zu erhöhen, fügt man dem Gärgemisch auch häufig Rosinenabkochungen, Apfelwein, Getreideaufgüsse u. dgl. hinzu.

Prinzipiell erfolgt bei diesen Verfahren die Säuerung nur in den oberflächlichen Partien einer an Nährstoffen und Alkohol reichen Flüssigkeit, auf der sich in einer Hautdecke die betreffenden Essigbakterien angesiedelt haben. Man muß dabei ängstlich jede größere Erschütterung oder Bewegung dieser Essigbildner vermeiden, um ein Zerreißen und Untersinken der Hautdecken zu verhüten. Gut gehaltene Essigbildner wurden oft 6—8 Jahre in ununterbrochenem Betriebe erhalten. Dabei hatte sich soviel Weinstein, Hefe und Essigmutter angesammelt, daß schließlich eine Entleerung und Neufüllung des Fasses notwendig geworden ist.

Das erste Anstellen mit Nährflüssigkeiten, die reich an Essigsäure waren, hat seinen Grund darin, daß speziell Mykodermen und auch andere Bakterien durch Essigsäure viel eher geschädigt werden als echte Essigbakterien. So konnten letztere leicht die Oberhand gewinnen und eine Überwucherung durch die schädlichen Mikroben war verhütet.

Nachdem auch E. Chr. Hansen und Lafar auf die großen Vorteile der Anwendung von Reinzuchten in den Gärungsbetrieben hingewiesen hatten und die Kenntnisse über die Eigenschaften einer Reihe verschiedener Essigbakterienarten aus Reinzuchten derselben erschöpfend gewonnen worden waren, machte man in Weinessigfabriken die ersten Versuche mit der Verwendung von Reinkulturen. So hatte bereits im Jahre 1910 Henneberg ganz besondere Arten für die Wein- und Bieressigherstellung festgestellt und erprobt und für die erstere das Bacterium orleanense und das Bacterium xylinoides, für letztere das Bacterium rancens und das Bacterium acetosum empfohlen. Die intensive Untersuchung der Decken bildenden Essigsäurebakterien führte auch zur Erkenntnis jener Arten, die sich zwar sehr leicht und rasch einbürgern und selbst Reinkulturen überwuchern, aber wenig günstig wirken und mitunter ein sehr mangelhaftes Produkt zur Folge haben. Hinsichtlich der Weinessigbakterien ist hier besonders das Bacterium xylinum als gefährlich zu nennen, da es einerseits enorme Deckenhäute ausbildet, die infolge ihrer Schwere leicht untersinken und dadurch die Essiggärung verhindern oder mindestens wesentlich schwächen, und andererseits an sich nicht sehr viel Essigsäure bildet und diese in großem Maße rasch weiter oxydiert. Als gänzlich unbrauchbar für die Weinessiggärung erweisen sich unter andern auch das Bacterium vini acetati und das Bacterium ascendens. Beide Arten erzeugen derart lockere und unzusammenhängende Häute, daß eine Trübung des Essiggutes unvermeidlich ist. Ganz allgemein kann gesagt werden, daß sich für die Weinessigbereitung nach dem Orleansverfahren nur jene Arten eignen, die nicht zu voluminöse, aber festgefügte Decken (Häute) ausbilden, rasch und intensiv säuern und die gebildete Essigsäure nur langsam und in geringem Grade weiter oxydieren.

Eine Abart obiger Verfahren besteht darin, daß die Gärflüssigkeit nicht mehr vollkommen ruhig gehalten wird, sondern unter der Essighaut sehr langsam bewegt wird. Nach Dechert wurden dabei Gärbottiche

in gleicher Höhe aufgestellt und mittels eines Hebers unter der Decke die Flüssigkeit zum Boden des nächsten Behälters geführt. Interessant ist auch das Verfahren von Frings, nach dem unter einer geschlossenen Essighaut das Gärgut langsam durchgeführt wird, so daß auf einer Seite eines solchen Schiffes die Maische eintritt und auf der anderen Seite als fertiger Essig verläßt.

Das zuletzt erwähnte Verfahren leitet bereits zur Schnellessigerzeugung über, welche wesentlich anders geartete Essigbakterien erfordert. Im Grunde genommen kann man von einem Hervorgehen des Schnellessigverfahrens aus dem Orleansverfahren eigentlich nicht sprechen, da ersteres ebenfalls eine sehr weit zurückliegende Vergangenheit besitzt und sich beide Verfahren nebeneinander entwickelt haben.

Der deutsche Chemiker Glauber hat im Jahre 1654 bereits ein Verfahren der Essigbereitung beschrieben, das die Grundlage des heutigen deutschen Verfahrens der Schnellessigfabrikation bildet und von Boerhaave im Jahre 1732 in sein Buch über Essigerzeugung übernommen worden ist, nachdem es lange vorher in den Niederlanden und in Holland vielfach geübt worden ist. „Dieses (also zu Unrecht nach Boerhaave benannte) Verfahren ist vermutlich aus der Beobachtung hervorgegangen, daß Weintrester, welche als Abfall fortgeworfen worden sind oder auf der Oberfläche der in Alkoholgärung begriffenen Rotweinmaische schwimmen, rasch und reichlich sauer werden. An die Stelle der nicht zu jeder Jahreszeit verfügbaren Trester traten dann die haltbaren und versendbaren Traubenstiele (Kämme), die so auch zu einem Gegenstand der Ausfuhr aus Frankreich nach den Niederlanden wurden. Boerhaave verwendete zwei oben offene Bottiche oder aber zwei aufrecht gestellte Fässer, deren oberer Boden weggenommen worden ist. In einiger Entfernung von dem unteren Boden setzt man einen Rost ein, auf dem zunächst Weinreben und auf diesen soviel Traubenkämme zu liegen kommen, daß der Bottich zu mehr als der Hälfte mit ihnen beschickt ist. Den einen der beiden derart hergerichteten Bottiche (Fässer), die an einem warmen Orte (25 bis 27° C) aufgestellt sind, gießt man dann ganz und den anderen halb mit Wein voll. In letzterem tritt bald so kräftig Säuerung ein, daß die Temperatur in ihm binnen 24 Stunden hoch ansteigt. Man gießt diesen Bottich nun aus dem anderen voll, so daß jetzt in letzterem (nur halb gefüllten) Bottich die Säuerung sich einstellt, worauf er wieder aus dem ersten gefüllt wird. Und so soll man das Umgießen durch 15—20 Tage hindurch wiederholen, worauf der Essig dann gar ist. Als gegen Ende des achtzehnten Jahrhunderts die Wirkung des Luftsauerstoffes bei der Essigsäuregärung festgestellt worden war, ging man dazu über, das Maischgut in liegenden Fässern, die zu zwei Dritteln damit beschickt waren, unterzubringen und diese mehrere Male im Tage zu rollen, worauf jeweils wieder das Spundloch geöffnet wurde. Hier haben wir also bereits den bis auf das Luftloch geschlossenen Bildner vor uns[1]).“

Wesentliche Fortschritte in die Schnellessigfabrikation brachte nunmehr Sebastian Schützenbach im Jahre 1823, indem er zum Preise von 1500 Talern den Essigfabrikanten ein neues Verfahren anbot, „einen dem echten Weinessig gleichen, sehr starken Essig innerhalb achtund-

1) Wörtlich entnommen aus: „Die Essigsäuregärung“ von Dr. Lafar, im Handbuch der technischen Mykologie von Lafar, Bd. 5, S. 607.

vierzig Stunden fabriksmäßig zu erzeugen." Daran war noch die Bedingung geknüpft, keinem andern dieses Verfahren weiter zu verkaufen oder zu verraten. Dieselbe scheint tatsächlich gehalten worden zu sein, denn erst sehr viel später wurde dasselbe in seinen Einzelheiten allgemein bekannt. In der Folge wurde gerade auf dem Gebiete der Schnellessigfabrikation viel und eingehend in den deutschen Gauen gearbeitet, manche Verbesserung dabei geschaffen und Erkenntnisse über das Leben der Essigbakterien und ihre Tätigkeit gewonnen, so daß man mit vollem Rechte dieses Verfahren als das „deutsche Verfahren" bezeichnen kann.

Das Wesentlichste des deutschen Verfahrens besteht wohl darin, die Einrichtungen so zu treffen, daß das Gärmaterial in möglichst dünner Schicht einem Luftstrom entgegengeführt wird, um eine rasche Oxydation zu ermöglichen. Es würde zu weit führen, all die vielen teilweise autorlosen Angaben über diese Einrichtungen hier wiederzugeben. Vielfach wurden und werden noch Essigbildner verwendet, die aus 2½ m hohen und 1—1½ m breiten, sich nach oben verjüngenden Bottichen bestehen, die aus Eichenholz, Lärchenholz oder auch aus Pitschpineholz verfertigt sind. Um ein Durchrosten der Eisenreifen zu verhindern, werden dieselben mit geteerter Pappe u. dgl. unterlegt. Der Innenraum ist gewöhnlich durch zwei Lattenroste, bzw. Zwischenböden abgeteilt, so daß oben ein etwa 20—30 cm hoher Raum zur Aufnahme, bzw. Verteilung des Essiggutes entsteht, in der Mitte ein Hauptraum zur Unterbringung des aus Buchenspänen bestehenden Füllmateriales und endlich unten ein ungefähr 20 bis 30 cm hoher Raum zur Sammlung des Abflußessigs. Knapp unter dem unteren Rande des unteren Lattenrostes befinden sich Zuglöcher zum Einströmen der Luft. Eine zweite Reihe solcher Öffnungen zieht sich in der Mitte des Hauptraumes durch oder es werden dort gegen die Mitte des Hauptraumes gerichtete Rohre eingefügt, um eine gleichmäßige Durchlüftung herbeizuführen. Wie die Reifen, so müssen alle Eisen- oder Metallteile durch einen entsprechenden Überzug aus Asphalt vor dem Zersetzen geschützt werden.

In dem Füllmaterial, bestehend aus gerollten Buchenspänen, siedeln sich nun oberflächlich Essigbakterien an, die eben nur wenig hautbildend und stark vergärend sein müssen und auf Seite 361 als Gruppe der Schnellessigbakterien beschrieben sind.

Zur Erreichung eines rationellen Betriebes ist die Kenntnis der Biologie der verwendeten Essigbakterien unumgänglich notwendig. Von Einfluß auf die Ausbeute sind besonders die Art der Durchlüftung, die Art der Verteilung des Essiggutes und die im Essigbildner oder Essigständer herrschende Temperatur.

Die Untersuchungen hinsichtlich des Säuerungsverlaufes im Bildner haben ergeben, daß das Maximum der Säuerung in den peripheren Teilen des Füllmateriales erreicht wird, während die zentral liegenden Späne am wenigsten Säure aufweisen, was vielleicht mit der Luftverteilung zusammenhängen mag. Nach Janke kann man die weniger ökonomisch arbeitenden zentralen Partien einfach durch einen Kühlschacht ersetzen. Es scheint sich dies nach den vorliegenden Versuchen tatsächlich zu bewähren, da bei denselben trotz Verringerung der Spanmasse um ca. $^1/_7$ die durchschnittliche Leistung solcher Schachtbildner nicht zurückgegangen ist.

Auch die Verteilung des Essiggutes im Füllmaterial ist von Einfluß auf den Verlauf der Gärung. Deshalb hat man sich viel mit der Lösung der Frage nach zweckmäßigen Konstruktionen von Zuflußreglern und Verteilern des Essiggutes befaßt, wozu vornehmlich drehbare Spritzeinrichtungen Anwendung finden, wie das Segnersche Wasserrad es vorbildet.

Für den Verlauf der Säuerung sind die Temperaturverhältnisse von größter Bedeutung. Der in voller Gärung befindliche Essigbildner erwärmt sich sehr hoch. Die so entstehende Wärme wird an die Umgebung abgegeben. Schwankungen der Temperatur in der Essigstube wirken naturgemäß auf die Temperatur der Bildner zurück. Deshalb ist auf eine möglichst gleichmäßige Temperierung der Essigstube selbst in erster Linie zu sehen. Im Essigständer selbst herrscht die höchste Temperatur unterhalb der obersten Füllmaterialschicht und nimmt nach oben und unten wieder ab. Zu hohe Temperaturen führen zu einer zu energischen Oxydation, wobei auch Überoxydationen zustande kommen, wodurch der Säuregehalt des Ablaufessigs stark heruntergedrückt wird. Die Überoxydation kann aber auch auf fremde Mikroben, wie Mykodermen und Schimmelpilze, zurückgehen, die große Mengen von Essigsäure verzehren.

Einen wesentlichen Nachteil in der Schnellessigerzeugung verursacht die Verdunstung. Der Essigpraktiker sagt im allgemeinen, daß einem Kilo Alkohol 1 kg Essigsäure bei der Gärung entspricht, was an sich schon einen Verlust von rund 30% bedeutet. Auch geht durch den Ständer viel mehr Luft hindurch, als zur Oxydation des vorhandenen Alkohols rechnungsmäßig notwendig ist. Bedenkt man noch die große Oberfläche der gerollten Buchenspäne, die jedenfalls ca. 30° betragende Temperatur, so können die großen Verdunstungsverluste nicht mehr wundernehmen. Man war daher von jeher bestrebt, durch geeignete Vorrichtungen gerade die Verdunstungsverluste an Alkohol und Essigsäure möglichst einzuschränken. So entstanden Kondensationsanlagen, die im wesentlichen entweder den Abgasen den Alkohol und die Essigsäure entziehen oder als besondere Bildner mit diesen Abgasen neben Essiggut gespeist werden.

In der Praxis wird teils nach dem Einbildnersystem, teils nach dem Mehrbildnersystem gearbeitet. Im ersteren Falle wird der Spritessig verkaufsfertig nur aus einem Bildner gewonnen, wobei das Produkt meist nicht viel über 8% Essigsäure erreicht. In der Regel arbeitet man nach dem Mehrbildnersystem. Dabei wird die Essigbildung in 2 und mehr Ständern stufenweise in der Art vorgenommen, daß zuerst in einer Gruppe von Bildnern ein schwacher Essig gewonnen wird, der nach Zugabe von wenig Alkohol eine zweite Gruppe von Bildnern durchläuft, wodurch eine weitere Ansäuerung erzielt wird. Vielfach erfolgt noch eine Alkoholzugabe und neuerliche Passage durch einen dritten Bildner. So erhält man sehr hochprozentige Essigsprite.

An Stelle der bisher besprochenen Bottichbildner werden auch sogenannte Kammerapparate verschiedener Größe verwendet. Um die fast immer mehr oder weniger durchlässigen Holzwände zu vermeiden, wurden auch Essigbildner aus glasiertem Ton bis zu einer Höhe von etwa 2½ m bei einem Umfange von 1 m hergestellt.

Für den Betrieb wertvoll ist auch die Kenntnis des Verhaltens der Essigbakterien gegen im allgemeinen giftige Verbindungen, wie solche

im Essigausgangsmaterial mitunter nicht oder nur schwierig zu vermeiden sind.

Die schwefelige Säure, ein ausgesprochenes Pilzgift, wird in der Weinbereitung vielfach verwendet. Sie entsteht übrigens auch häufig bei der Mostgärung. Es hat sich gezeigt, daß Essigsäurebakterien wie überhaupt Spaltpilze gegen schweflige Säure nur wenig widerstandsfähig sind. Eine weit geringere Empfindlichkeit dagegen weisen die Weinhefen und Kahmhefen auf. Eine dem Bacterium aceti Hansen nahestehende, aus Wein stammende Art wurde schon bei Mengen von 50 mg schwefliger Säure in der Nährlösung vernichtet.

Für anorganische Säuren im allgemeinen zeigen die Essigbakterien eine geringe Widerstandskraft; diese werden auch in guten Nährsubstraten nur schlecht ertragen. Allerdings zeigen in dieser Hinsicht die einzelnen Bakterienarten auch nicht unbedeutende Unterschiede. Am wirksamsten erweisen sich Salpetersäure, Salzsäure und Flußsäure, welche schon in einer Dosis von wenigen hundertstel Gramm in 100 ccm Nährsubstrat die meisten Essigsäurebakterien in kurzer Zeit vernichten.

Die Eigenschaft des Benzylsenföles, für Mykodermen schädlicher zu sein als für Essigbakterien, läßt dessen Verwendung bei der Anreicherung von Essigbakterien zu. Schon die Anwesenheit weniger Milligramme des Benzylsenföles in 100 cc Nährsubstrat verhindert jedes Wachstum von Mykodermen.

4. Herstellung der Essigarten.

Im Anschlusse an die Essigmykologie sei nur kurz auf die verschiedenen Arten von Gärungsessig und dessen Herstellung hingewiesen.

Mit Weinessig bezeichnet man einen Speiseessig, der mit Hilfe des Orleansverfahrens aus Wein hergestellt ist. Nicht in allen Ländern ist man so rigoros. Selbst in Deutschland geht noch jener Essig als Weinessig, der aus einem Gemisch von wenigstens 20 Raumteilen Wein mit maximal 80 Raumteilen Essiggut mit Hilfe des Schnellessigverfahrens erzeugt wird. Man kann wohl sagen, daß das Orleansverfahren bei gleichzeitiger Verwendung entsprechend guter Weinsorten den besten Weinessig gibt.

Von Bedeutung für obstreiche Gegenden ist die Erzeugung des Obstessigs oder Obstweinessigs. Besonders in Nordamerika werden jährlich große Mengen Apfelweinessigs oder Zideressigs erzeugt. Die Herstellung geschieht dort meist so, daß die in langsam rotierenden Zylindertrommeln eingefüllten Buchenspäne in die Essigmaische eintauchen, welche sich in kastenförmigen Behältern befindet.

Honigessig wird besonders in Holland im großen erzeugt. Die Säuerung desselben hängt in erster Linie vom Vergärungsgrad des Honigweines oder Metes ab. Guter Honigessig weist immerhin einen Gehalt von ca. 4% Essigsäure auf.

In Amerika, England und Australien wird vielfach Malzessig erzeugt, dessen Qualität besonders in England wegen nicht genügend reiner Alkoholgärung der Würze und unzweckmäßiger Säuerungstechnik meist gering ist. Durch Anwendung von Reinkulturen und des Orleansverfahrens läßt sich aber ein wertvolles Produkt gewinnen. In Australien

stellt man den Malzessig entweder ausschließlich aus Getreide her oder aus Getreidemaischen mit einem besonderen Zuckerzusatz. Die Säuerung selbst geschieht in hohen und schmalen Ständern mit Lattenpackung, was zu einer guten Durchlüftung bei gleichmäßiger Verteilung des Gärgutes führt.

In Japan wird meist Saké-Essig entweder aus verdorbenem Saké oder aus Moto hergestellt. Mitunter wird dazu auch mißratener Moromi verwendet oder die Preßrückstände von der Sakébereitung (Saké-Kasu). Im letzteren Falle werden die Rückstände der alkoholischen Gärung durch etwa eine Woche unterworfen, dann mit Wasser verdünnt und gepreßt. Die Hälfte der so erhaltenen Flüssigkeit wird auf 80—90° C erhitzt und wieder hinzugefügt. Dieses Essiggut wird nun mit einer Rohkultur von Essigsäurebakterien, dem sogenannten Tenazu, dem Essigsamen, verimpft. Die Essiggärung ist nach etwa einem Monat beendet. Der so gewonnene Essig wird dann Kasuzu genannt. Die Rohkultur, das Tanezu enthält im wesentlichen neben dem Aspergillus Oryzae, Aspergillus glaucus, Mycoderma- und Torula-Arten der Hauptmenge nach eine Reihe verschiedener Essigsäurebakterien, die dem Bacterium ascendens, Bacterium xylinoides, Bacterium aceti und Bacterium acetosum nahestehen.

Das verbreitetste auf dem Wege des Schnellessigverfahrens aus Spiritus mit Nährzusätzen für die Essigbakterien gewonnene Produkt ist der sogenannte Spritessig. Derselbe kommt entsprechend seines Gehaltes an Essigsäure, als Essig mit mindestens 3,5%, als Doppelessig mit mindestens 7% und endlich als dreifacher Essig oder Essigsprit mit mindestens 10,5% Essigsäure in den Handel.

5. Schädlinge der Gärungsessigerzeugung.

Solange die Gärungsessigerzeugung nicht ausschließlich mit Reinkulturen von Essigsäurebakterien arbeitet und die Methoden der Gärungsdurchführung sowohl beim Orleans- als auch beim Schnellessigverfahren nicht jede Infektionsmöglichkeit ausschließen, können durch Einwanderung von fremden Mikroben schwere Störungen des Betriebes verursacht werden. Diese fremdmikrobiellen Störungen können entweder dadurch wirken, daß eine Überwucherung der erwünschten Kulturessigbakterien auftritt oder aber dadurch, daß neben den Kulturessigbakterien andere Organismen die erzeugte Säure in großem Maße aufzehren.

Wenn ein Essigständer in der Säurebildung nachläßt und die Untersuchung des schwachen Essigs darauf hindeutet, daß sehr wenig Alkohol aus dem Essiggut vergoren worden ist, sind meist die Kulturessigbakterien durch fremde Pilze verdrängt oder aber durch letztere an der Tätigkeit verhindert worden. Die aus verschiedenen Teilen des Füllraumes entnommenen Späneproben sind bakteriologisch zu untersuchen. Dabei ergibt sich oft eine Verschleimung der Oberfläche der Späne, wodurch die Schnellessigbakterien in wenig luftdurchlässige Massen eingebettet werden und daher weder mit dem Essiggut noch mit der notwendigen Luft genügend in Berührung kommen. Diese Verschleimung kann auf stark hautbildende fremde Essigbakterien zurückgehen oder überhaupt schleimbildende Arten. Auch Mykodermen können sich auf den Spänen ansiedeln

und schließlich die Essigbakterien überwuchern. Das gleiche gilt für eine Reihe von Schimmelpilzen. Selbst wenn daneben noch reichlich Essigbakterien kräftig den Alkohol oxydieren, wird doch ein säurearmes Produkt entstehen, weil durch die Mykodermen und Schimmelpilze die erzeugte Essigsäure besonders in den gut durchlüfteten Schnellessigbildnern rasch unter Kohlensäurebildung weiter oxydiert wird. Diese Störung macht sich durch das Auftreten von Kohlensäure besonders bemerkbar.

Als äußerst unbequemer Störer stellt sich bei der Essigfabrikation häufig ein kleiner Fadenwurm ein, das Essigälchen, Anguillula aceti. Es ist ein dünner, fadenförmiger weißer Wurm; das Männchen ist gewöhnlich kleiner und hat eine durchschnittliche Länge von 1 mm; das Weibchen eine solche von 1,5—2 mm. Sie sind sehr munter und beweglich und können, in sehr großer Zahl vorhanden, durch ihre Bewegung die normale Hautbildung bei der Wein- und Bieressigerzeugung nach dem Orleansverfahren wesentlich stören. Als luftliebende Tiere streben sie eben der Oberfläche zu und halten sich dort dauernd auf. Wenn sie auch Essigbakterien in großer Menge verzehren, so schaden sie durch die Verminderung der Bakterien wohl nicht, da die Vermehrung der letzteren viel zu rasch vor sich geht. Treten in Schnellessigfabriken Essigälchen in großer Menge auf, deutet dies auf eine Betriebsstörung hin. Hier ist meist nicht die Ursache der Betriebsstörung der Fadenwurm, sondern die durch die schon bestehende Betriebsstörung verminderte Säuerung des Ablaufessigs, welche eine üppige Entwicklung des Älchens ermöglicht.

Je weniger der Essig Säure enthält, um so besser gedeihen in ihm die Älchen, denn in den starken Essigen mit 12—13% Säure vermehren sie sich überhaupt nicht mehr und sterben in 1—2 Monaten dann sicher ab. Erst bei Konzentrationen von 9—10% erhalten sie sich ohne nennenswerte Vermehrung lebend. Essigsäuremengen von 6% abwärts gestatten ihnen erst eine entsprechende Vermehrung. Zu ihrer günstigen Vermehrung verlangen sie Temperaturen von etwa 28° C. Unter 14° C und über 34° C findet eine Vermehrung nicht mehr statt. Bei 42° C wurden die Älchen in kurzer Zeit vernichtet. Eine Kühlhaltung des Essigs bei der Lagerung verhütet ebenfalls jede Vermehrung dieser im übrigen für den Menschen unschädlichen Tierchen.

Gegen Luftabschluß sind die Essigälchen sehr empfindlich und sterben daher bei der Aufbewahrung des Essigs in luftdicht verkorkten Flaschen rasch ab. Auch starke Lichtbestrahlungen schädigen die Tiere, ja töten sie.

Die Anguillula aceti zerstört den Essig, bzw. die Essigsäure nicht; sie ist eher als ein Indikator für einen nur wenig Säure haltigen Essig anzusprechen. Trotzdem ist ihre Anwesenheit im Speiseessig nicht erwünscht, da er damit verunreinigt jedenfalls als unappetitlich zu bezeichnen ist und auch im Verkaufswert wesentlich sinkt.

I. Buttersäuregärung.

Die durch mikrobielle Tätigkeit entstehende Buttersäure kann sehr verschiedener Herkunft sein. Wir haben schon gehört, daß die anaërobe Fäulnis der Eiweißkörper als Nebenprodukt Buttersäure liefert.

Hier wollen wir uns nur mit der eigentlichen Buttersäuregärung näher befassen, die am Zuckermolekül einsetzt oder milchsaure Salze angreift.

Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche anaërobe sporenbildende Bakterienarten beschrieben, die die Fähigkeit haben, Kohlehydrate unter kräftiger Buttersäurebildung zu vergären. Es hat sich nun herausgestellt, daß alle bekannt gewordenen Buttersäuregärungserreger sowohl in ihren chemischen Leistungen als auch in ihren Formen sehr variable Bakterienarten sind. Schon Schattenfroh und Graßberger zogen dieselben in drei Gruppen zusammen, die sie durch folgende Typen kennzeichneten:

1. Der bewegliche Buttersäurebazillus, der keine tieferen Eiweißzersetzungen herbeiführt, wohl aber Kohlehydrate intensiv unter ausgiebiger Buttersäurebildung vergärt.

2. Der Rauschbrand- und Gasphlegmonebazillus. Die Vertreter dieser Formen sind entweder beweglich oder unbeweglich, sporenbildend oder sporenlos, auch denaturiert, wie sich die beiden genannten Autoren ausdrücken, und vergären kräftig Kohlehydrate, ohne energische Eiweißfäulnis hervorzurufen. Die sporenbildenden Formen erzeugen nun vorwiegend Buttersäure, während die denaturierten Arten in größeren Mengen Milchsäure liefern.

3. Der Ödembazillus, bei dem die Buttersäuregärung mehr in den Hintergrund tritt und die Milchsäuregärung ausgesprochen ist. Daneben entsteht aus den Kohlehydraten noch reichlich Äthylalkohol. Er zersetzt die Eiweißstoffe tief und ist dementsprechend auch ein Fäulniserreger.

Als vierte Gruppe wird den bereits genannten noch die Fäulnisbakterie Bacillus putrificus Bienstock angeschlossen, der zwar kräftig Kohlehydrate in Milchsäure und Äthylalkohol vergärt, Buttersäure aber nur beim Eiweißabbau liefert.

Bredemann hat die verschiedenen unter den Namen Clostridium, Granulobacter usw. gehenden anaëroben Buttersäurebakterien einer gründlichen experimentellen Bearbeitung unterzogen und kam dabei zu dem Ergebnis, daß infolge der großen Variationsbreite dieser Arten dieselben am besten in eine einzige Gruppe, Bacillus amylobacter A. M. et Bredemann zusammenzustellen sind. Sicher gilt dies für die meisten sogenannten Clostridien und mit großer Wahrscheinlichkeit auch für die anderen als Arten aufgeführten Buttersäureerreger. Es hat sich für die meisten untersuchten Vertreter dieser Gruppe herausgestellt, daß sowohl die Formen als auch die chemischen Leistungen der einzelnen Art mindestens ebenso große Unterschiede und Variationen aufweisen als die Unterschiede zwischen den früher aufgestellten Arten betragen. Es sind durchwegs anaërobe Bakterienarten, deren anaërobe Zucht nur dann gelingt, wenn sehr große Mengen zur Verimpfung gelangen.

Die Buttersäurebakterien vergären nun alle Kohlehydrate mit Ausnahme der Zellulose. Allerdings ist das Gärvermögen bei den einzelnen Stämmen verschieden. Immerhin gelingt es aber, durch genügend große Einsaaten die Buttersäurebakterien zur Vergärung auch schwer angreifbarer Kohlehydrate zu zwingen.

Bei der Vergärung der Kohlehydrate durch die verschiedenen Vertreter des Bacillus amylobacter und seiner Verwandten entstehen

neben der Buttersäure noch Essigsäure, Propionsäure, Ameisensäure in geringen Mengen. Mitunter tritt auch Rechtsmilchsäure oder inaktive Milchsäure in größerer Quantität auf. Weiter finden sich als Gärprodukte noch höher siedende Alkohole. Buthylalkohol konnte nur in einem Falle nachgewiesen werden. Diese Nebenprodukte zeigen sich sowohl bei den einzelnen Stämmen als auch bei ein- und demselben Stamm in verschiedenem Maße. Diese Unterschiede sind von dem verwendeten Kohlehydrat abhängig. Die Vergärung erfolgt unter Entwicklung bedeutender Mengen von Kohlendioxyd und Wasserstoff. Als gemeinsame Eigenschaft aller Vertreter der Gruppe Bacillus amylobacter gilt ihr Stickstoffbindungsvermögen, das wir schon kennen lernten.

Die Morphologie und auch die Biologie dieser Arten haben wir bereits in der allgemeinen Formenlehre der Bakterien und bei der Stickstoffbindung kennen gelernt. Es erübrigt nur noch, etwas näher auf den Chemismus der Buttersäuregärung einzugehen, für die bisher ein Enzym nicht nachgewiesen werden konnte.

Für die Erklärung der chemischen Vorgänge bei der Buttersäuregärung sind die Ergebnisse der Versuche Perdrix mit dem Bacterium amylocyma, das bei der Vergärung von 16,6% Traubenzucker in einer Kalziumkarbonat enthaltenen Kultur 6,685 g Buttersäure und 1,775 g Essigsäure unter Bildung von Kohlendioxyd und Wasserstoff ergab. Dabei war in den ersten Tagen der Gärung das Verhältnis von $CO_2 : H = 35 : 65$, später 48 : 52, während sich Buttersäure zu Essigsäure wie 26 : 74 und schließlich 85 : 15 verhielt. Nach Perdrix verläuft die Buttersäuregärung in drei Phasen nach folgenden Formeln:

1. $56\ C_6H_{12}O_6 + 42\ H_2O = 116\ H_2 + 114\ CO_2 + 30\ C_2H_4O_2 + 36\ C_4H_8O_2$
2. $46\ C_6H_{12}O_6 + 18\ H_2O = 112\ H_2 + 94\ CO_2 + 15\ C_2H_4O_2 + 38\ C_4H_8O_2$
3. $C_6H_{12}O_6 = 2\ H_2 + 2\ CO_2 + C_4H_8O_2$.

Auch die Vergärung von Saccharose führt zu den gleichen Endprodukten. Ihr Verlauf entspricht etwa den Gleichungen:

1. $39\ C_{12}H_{22}O_{11} + 59\ H_2O = 172\ H_2 + 152\ CO_2 + 26\ C_2H_4O_2 + 66C_4H_8O_2$
2. $30\ C_{12}H_{22}O_{11} + 34\ H_2O = 120\ H_2 + 116\ CO_2 + 10\ C_2H_4O_2 + 56\ C_4H_8O_2$
3. $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = 4\ H_2 + 4\ CO_2 + 2\ C_4H_8O_2$.

Nach den auf die Untersuchungen von Perdrix sich stützenden Ausführungen Kruses verlaufen dabei eigentlich drei Gärungen zeitlich getrennt voneinander.

Zuerst setzt eine Wasserstoffgärung des Zuckers ein, die sich durch die Formel

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O = 6\ CO_2 + 12\ H_2$$

ausdrücken läßt.

Wenn diese am Ende ist, beginnt die anaërobe Essiggärung, deren Verlauf folgender Formel entsprechen dürfte:

$$C_6H_{12}O_6 = 3\ C_2H_4O_2.$$

Den Schluß bildet dann die Buttersäuregärung, die am ausgiebigsten auftritt und im einfachsten Falle nach der folgenden Gleichung erfolgt, die schon Perdrix aufstellte.

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,CO_2 + 2\,H_2 + C_4H_8O_2.$$

Diese Annahmen bestehen nur für diese reine Buttersäuregärung des Bacillus amylocyma. Viel komplizierter liegen die Verhältnisse bei der Butylgärung, deren Hauptprodukte Butylalkohol und Buttersäure sind. Für diese Kohlehydratumsetzung wurden einige Bakterienarten bekannt, wie beispielsweise der Bacillus orthybutylicus Grimbert, Amylobacter butylicum Duclaux, Granulabacter saccharobutylicum Beijerinck u. a. m.

Mit Kruse kann man sich die Umsetzungen nach Grimberts Gasanalyse der Gärungsgase von Bacillus orthobutylicus etwa so vorstellen, daß bei der kombinierten Buttersäure-Butylalkoholgärung unter Zugrundelegung des Verhältnisses von $CO_2 : H_2 = 49{,}7 : 24{,}8$ oder 2 : 1 einfach nach der obigen Formel Buttersäure und nachfolgender Gleichung Butylalkohol entsteht.

$$C_6H_{12}O_6 = C_4H_{10}O + 2\,CO_2 + H_2O.$$

Beide Gleichungen vereint werden den Verhältnissen am nächsten kommen, was ergibt

$$2\,C_6H_{12}O_6 = 4\,CO_2 + 2\,H_2 + H_2O + C_4H_8O_2 + C_4H_{10}O$$

Wir erhalten hier dasselbe Verhältnis der Gase: $4\,CO_2 : 2\,H_2 = 2 : 1$.

In vielen Fällen ist der Verlauf der Gärung aber durchaus nicht so einfach. Da müßte man dann zu anderen Gleichungen Zuflucht nehmen, um allen Verhältnissen gerecht zu werden.

Als Ausgangsmaterial für die Buttersäuregärung kann auch Kalziumlaktat dienen. Auch die Vertreter der Gruppe Bacillus amylobacter haben Fähigkeit, aus Kalziumlaktat Buttersäure zu erzeugen. Es gelingt diese Gärung auch in Reinkultur, wenn genügend große Einsaaten gemacht werden. Wir finden diese Eigenschaft aber vornehmlich bei aëroben Bakterienarten, wie Milchsäurebakterien, Kartoffelbazillen, Heubazillen und anderen. Dabei entsteht Kalziumkarbonat und Wasserstoff.

K. Zellulosegärung.

In der Natur unterliegen große Mengen von Zellulose ständig dem Zerfalle. Die Pflanzendecke der Erde liefert enorme Quantitäten dieses Kohlehydrates. Aber auch der Kot der pflanzenfressenden Tiere enthält noch reichlich unzersetzte Zellulose, wenn auch gerade die Wiederkäuer im Darm mikrobiell viel Zellulose umsetzen. An der Vergärung, also dem Abbau der Zellulose, sind sowohl anaërobe als aërobe Spaltpilze beteiligt, dann Aktinomyceten und Schimmelpilze. Sofern man die Zellulosezersetzung im und auf dem Erdboden im Auge hat, scheinen die letzteren mit den aëroben Bakterien wohl die größeren Mengen rasch zu zersetzen. Dies gilt im vollen Umfange auch für die Zelluloseum-

setzungen bei der Rottung des Stalldüngers. In der Natur findet somit die Zellulosegärung sowohl bei Luftzutritt als auch bei Luftabschluß statt.

Die einzelnen Phasen des Abbaues der Zellulose sind noch keineswegs sichergestellt. Die Zellulose dürfte als erstes Spaltungsprodukt Zellobiose liefern, aus der dann durch Hydrolyse Glykose entsteht, die bekanntlich sehr leicht der weiteren Zersetzung und Gärung durch die verschiedensten Mikroben zugänglich ist. Aller Wahrscheinlichkeit nach vollzieht in vielen Fällen des Zelluloseabbaues diesen nicht eine einzige Bakterienart, sondern es treten aufeinanderfolgend die entsprechenden Arten in Tätigkeit. Wenn man kurz den bakteriellen Abbau der Zellulose im Verdauungskanal des Rindes oder Pferdes betrachtet, sieht man, daß vornehmlich flüchtige Säuren als Endprodukte auftreten, wie Buttersäure, Essigsäure und endlich Kohlendioxyd. Außerdem stellt sich dann entweder vorwiegend Methan oder Wasserstoff ein.

Unter der Annahme, daß durch hydrolytische Spaltungen aus der Zellulose zuerst Glukose gebildet wird, werden durch folgende Gleichungen die Richtungen des Abbaues angedeutet:

1. $(C_6H_{10}O_5)x + x\,H_2O = x\,C_6H_{12}O_6$

a) $C_6H_{12}O_6 = 3\,C_2H_4O_2$ (Essigsäure)

b) $C_6H_{12}O_6 = C_4H_8O_2 + 2\,CO_2 + 2\,H_2$ (Buttersäure)

Die Zersetzung der Zellulose unter kräftiger Methanbildung, die man deshalb auch als Methangärung der Zellulose bezeichnet, stellt sich besonders unter anaëroben Bedingungen kräftig ein und führt zu leicht nachweisbaren Methanausströmungen aus Sümpfen und stehenden Gewässern, die reichlich abgestorbene Pflanzenteile enthalten. Diese Methangärung erregen vornehmlich anaërobe, sporenbildende Stäbchenbakterien (Bacillus methanigenes), deren natürlicher Standort der Kanal-, Sumpf- und Flußschlamm ist.

Nach den eingehenden Untersuchungen Omelianskis kann man experimentell die Methangärung der Zellulose leicht dadurch hervorrufen, daß man in einem geräumigen langhalsigen Glaskolben Filtrierpapierstreifen, etwas Kreide und bis zum durchbohrten Stopfen eine anorganische Nährlösung folgender Zusammensetzung einbringt:

Destilliertes Wasser	1000 ccm
Monokaliumphosphat	1,0 g
Magnesiumsulfat	0,5 g
Ammonsulfat	1,0 g
Natriumchlorid	0,1 g

Nunmehr beimpft man den Kolben mit einer kleinen Menge Flußschlamm oder Pferdemist und verschließt ihn mit dem durchbohrten Kork, in dessen Bohrung man das eine Ende des S-förmig gekrümmten Gasableitungsrohres einsteckt. Das andere Ende mündet in eine pneumatische Wanne. Über dasselbe wird ein Endiometerrohr zur Aufnahme der entstehenden Gärungsgase gestülpt. Die Versuchsanordnung stellt man bei 30—35° C auf.

Nach einer längeren Inkubationszeit, die immer mindestens 1—4 Wochen dauert, beginnt die Gärung aufzutreten. Es entsteht eine kräftige Gasbildung, während die Papierstreifen eine welke Beschaffenheit bekommen und schließlich fleckig werden. Dann zeigen sich in denselben

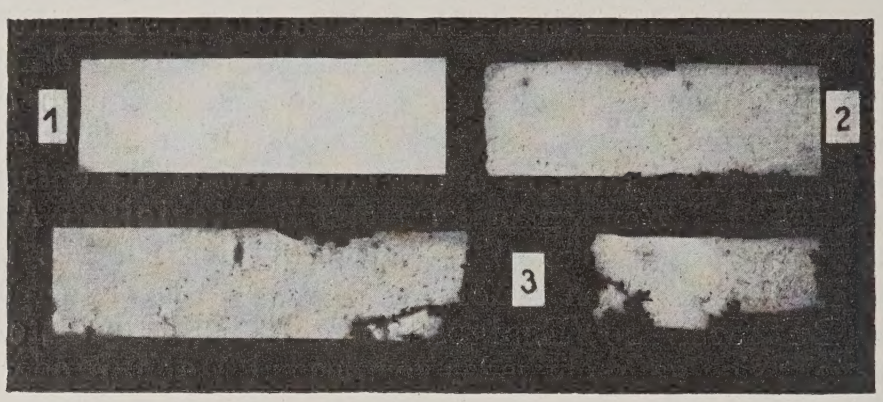


Fig. 134.

Löcher, sie werden dünner, brüchiger und erscheinen vollkommen zerfressen. Figur 134 zeigt uns die Veränderung der Filtrierpapierstreifen nach verschiedenen Zeiten der Gärung. 1 entspricht dem unveränder-

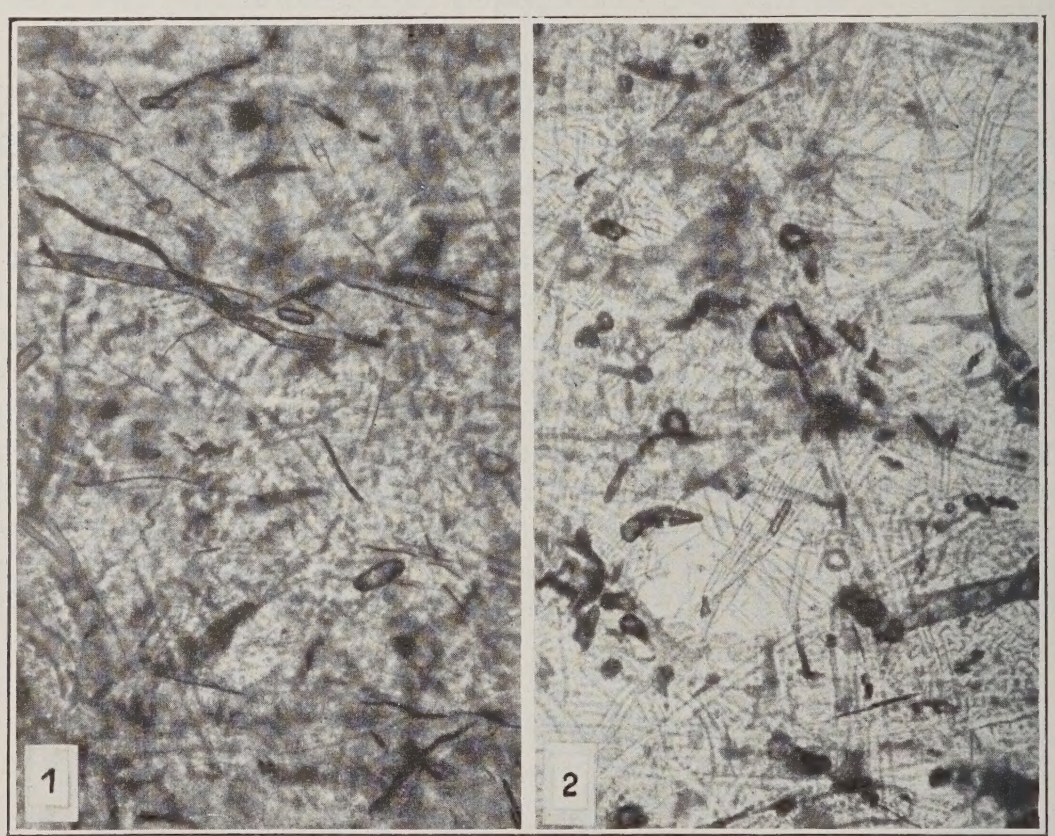


Fig. 135.

ten Streifen, während 2 eine leichte Durchlöcherung und Auffaserung aufweist, nachdem die Gärung zehn Tage in Gang war. Die Inkubationszeit betrug bei diesem Versuch 17 Tage, so daß also vom Beginne des Versuches bis zu diesem Stadium der Papierveränderung eine Zeit von 27 Tagen verstrich. Nach acht Wochen zeigten die Filtrierpapierstreifchen

das Aussehen von 3, waren also sehr stark zersetzt, vollständig fetzig und kaum mehr mit einem Drahthäkchen herauszufischen. Auch waren sie im Vergleich zur unvergorenen Probe bedeutend dünner und durchsichtiger geworden, und die Reste zeigten eine schwachbräunliche Verfärbung. Die größere Durchsichtigkeit und Durchlöcherung ist im Mikroskop bei durchfallendem Licht besonders auffallend und gut sichtbar. In Figur 135 sind zwei Photogramme wiedergegeben, von denen sich 1 auf das unzersetzte Filtrierpapier bezieht. Dasselbe enthält keine bei dieser Vergrößerung sichtbaren Löcher und besteht aus einem dichten Fasergeflecht. 2 dieser Figur zeigt das Photogramm des angegorenen Papiers, entsprechend 3 der vorigen Figur, bei der gleichen Vergrößerung. Hier fällt sofort das dünne Gefüge auf und die zahlreichen Lücken zwischen einzelnen gut sichtbaren, noch erhaltenen Faserzügen.

Wenn man nun von solchen zersetzten Filtrierpapierteilchen ein Präparat anfertigt, so sieht man die noch erhaltenen Faserreste dicht von Bakterien besetzt. Es sind kleine Stäbchen, die jedem Fäserchen massenhaft ansitzen. Unsere Figur 136 zeigt ein Mikrophotogramm aus einem solchen Präparat, in dem die Methangärungserreger der Zellulose gut zu sehen sind. In diesem Präparat findet man im Gesichtsfelde zerstreut noch eine Menge anderer Bakterienarten. Es handelt sich eben um die erste Rohkultur.

Fig. 136.

Wenn man nun in weitere gleich mit Nährflüssigkeit und Filtrierpapier beschickte Kolben von diesen zersetzten Filtrierpapierstückchen überimpft, so erhält man eine immer reinere Methangärung. Die Erreger selbst sind, wie schon gesagt, Stäbchenbakterien, die keine Neigung zur Bildung von Wuchsverbänden aufweisen. Sie sind meist leicht gekrümmt und messen im Mittel 5 μ in der Länge und etwa 0,4 μ in der Breite. Sie bilden endständige Sporen, wobei meist die Plektridienform deutlich zur Ausbildung kommt.

Omelianski untersuchte auch quantitativ die Gärprodukte nach einer nahezu vier Monate dauernden Zersetzung von schwedischem Filtrierpapier in einer mineralischen Nährlösung. Die Menge des gesamten zum Versuch verwendeten Papiers betrug 2,0815 g. Die Bilanz der ganzen Gärung ergab folgende Werte:

Zum Versuch verwendete Zellulose	2,0815 g
davon blieben unzersetzt	0,0750 g
demnach Menge der zersetzten Zellulose . .	2,0065 g
Bei der Zersetzung gebildete Fettsäuren	1,0223 g
bei der Zersetzung gebildete Kohlensäure	0,8678 g
bei der Zersetzung gebildetes Methan	0,1372 g
daher Summe der Gärprodukte	2,0273 g

Die Methanbildung könnte man sich dabei so vorstellen, daß aus einem Molekül der aus der Zellulose abgebauten Glukose je drei Moleküle Methan und Kohlensäure entstehen, entsprechend der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 = 3\,CH_4 + 3\,CO_2$$

Die obige Gärungsbilanz zeigt, daß die Menge der erhaltenen Kohlensäure diejenige des Methans weit mehr übersteigt, als dem formelmäßigen Ausdrucke hinsichtlich des Molekulargewichtes entsprechen würde. $CH_4 : CO_2$ müßte sich danach wie 4 : 11 oder rund 1 : 3 verhalten, während das Verhältnis im obigen Versuch etwa 1 : 6 beträgt. Es darf aber nicht vergessen werden, daß in diesem Experiment nicht mit einer Reinkultur gearbeitet worden ist und außerdem noch eine Reihe von Nebenumsetzungen vor sich gegangen sind. Die Gärungsbilanz ergibt noch etwa gleiche Mengen an gasförmigen Endprodukten ($CH_4 + CO_2$) und Fettsäuren. Letztere sind vornehmlich Essigsäure und Buttersäure.

Die angegebenen Verhältnisse zwischen den Gärprodukten gasförmiger Natur sind aber keineswegs zu allen Zeitpunkten der Gärung gleich. In den ersten Tagen der Gärung ist die Methanmenge etwa dreimal so groß als die Kohlensäuremenge, dann etwa doppelt so groß und schließlich zwischen dem 6. und 7. Gärungstag etwa gleich. Erst von da ab nimmt die Kohlendioxydquantität sehr zu und überschreitet wesentlich die Menge des Methans. Figur 137 gibt die Kurve der CH_4- und CO_2-Bildung an den einzelnen Tagen des Versuches wieder. In ihr sind diese Verhältnisse deutlich zu erkennen. Es entspricht dem Methan die punktierte Linie und der Kohlensäure die gestrichelte Linie. Der Kurve sind die nach den Zahlen von Omelianski berechneten Tagesmengen an CO_2 und CH_4 zugrundegelegt. Dieselben sind in Kubikzentimetern auf der Ordinate aufgetragen, während die Gärdauer in Tagen auf der Abszisse vermerkt ist. Die Kurve zeigt uns auch, daß das Maximum der Methanbildung zwischen dem 5. und 6. Tag liegt, während das CO_2-Maximum später auftritt. Im Gärverlauf, bzw. in der Gasbildung machen sich mehrere Schwankungen bemerkbar, die aber im allgemeinen beide Gase annähernd gleich treffen.

Über die Sumpfgasgärung Formeln aufzustellen, erscheint nach den bisher vorliegenden Untersuchungen noch verfrüht. Dazu kennen wir den Hergang in chemischer Hinsicht noch viel zu wenig.

Wenn man nun bei der Überimpfung aus der eben gut in Gärung befindlichen Rohkultur des Methanbakteriums eine ¼stündige Erwärmung des Impfmaterials auf 75° C einfügt, so pflegt sich in den folgenden Zuchten die Wasserstoffgärung der Zellulose festzusetzen, welche eine längere Inkubationszeit besitzt. Die Erreger der Methangärung befinden sich nämlich schon in vegetativer Vermehrung, und alle Sporen derselben sind schon ausgekeimt, während die Wasserstoffgärungserreger noch im Sporenstadium sind. Die Erwärmung auf 75° vernichtet in dieser Zeit leicht die vegetativen Zellen des Methanbakteriums, während die Sporen der wasserstoffbildenden Zellulosevergärer dieselbe schadlos ertragen. Schon nach der 5.—6. solchen Abimpfung findet man eine praktisch reine Wasserstoffgärung.

Die Erreger (Bacillus fossicularum) derselben sind ebenfalls schlanke, zarte Stäbchen von 0,5 μ Breite und 4—8—15 μ Länge. An

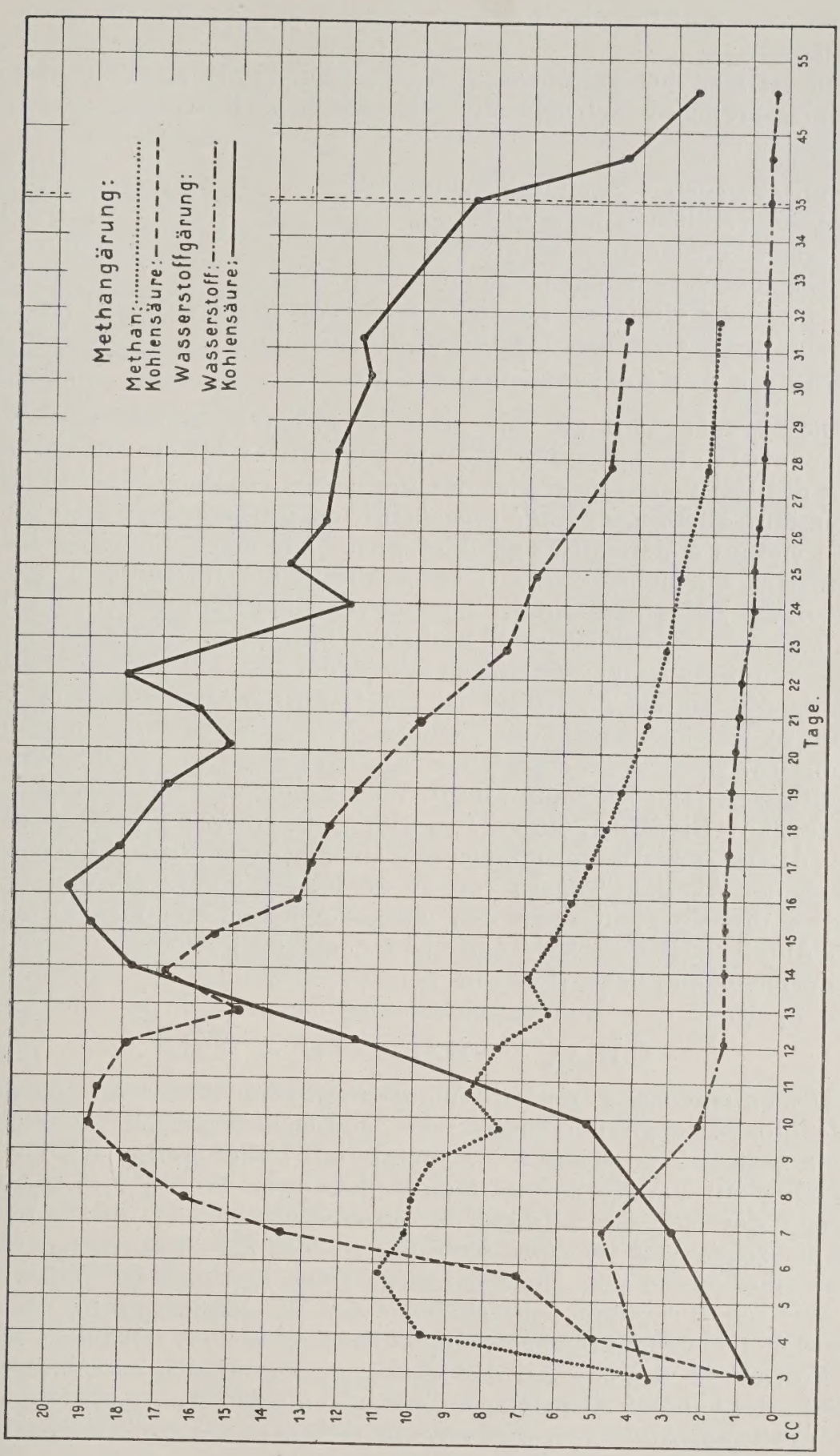


Fig. 137.

ihrem Ende zeigen sie zur Zeit der Sporenbildung eine Auftreibung, in der die ca. 1 μ große kugelige Spore ausgebildet wird. Auch diese Bakterien sitzen der Papierfaser in großer Menge an. Sie vergären Zellulose unter

Bildung von Kohlendioxyd und Wasserstoff, Buttersäure und Essigsäure.

Die Bilanz dieser Zersetzung der Zellulose ergibt nach Omelianski für einen größeren Versuch mit schwedischem Filtrierpapier folgende Verhältnisse:

Zum Versuch verwendete Zellulose	3,4743 g
davon verblieben unzersetzt	0,1272 g
daraus berechnete Menge zersetzter	3,3471 g
bei der Zersetzung gebildete Fettsäuren	2,2402 g
bei der Zersetzung gebildete Kohlensäure	0,9722 g
bei der Zersetzung gebildeter Wasserstoff	0,0138 g
Summe der Zersetzungsprodukte	3,2262 g

Die Wasserstoffgärung der Zellulose liefert also wenig Wasserstoff gegenüber der Menge an Kohlensäure. In den ersten Tagen des Gärungsprozesses ist das Verhältnis zwischen Wasserstoff und Kohlensäure allerdings gerade umgekehrt, da zu dieser Zeit drei- bis viermal so viel an ersterem Gas gebildet wird. Um den achten Tag des Gärverlaufes ist die Menge beider Gase annähernd gleich. In der Folge überwiegt dann bedeutend die Kohlendioxydproduktion, welche ihr Maximum zwischen dem sechzehnten und siebzehnten Tag der Gärung erreicht und dann unter kleineren Anstiegen allmählich absinkt. Die von denselben Gesichtspunkten aus auf Grund der von Omelianski gefundenen Zahlen für die in verschiedenen Zeiten entstandenen Gasmengen konstruierten in Figur 137 wiedergegebenen Kurven geben einen guten Einblick in diese Verhältnisse. Die strichpunktierte Kurve entspricht dem Verlauf der Wasserstoffbildung, die vollausgezogene demjenigen der Kohlendioxydbildung. Bis zur punktierten Ordinate entsprechen die einzelnen Marken der Abszisse Tagen; von da ab ist die Kurve aber zusammengezogen, um sie nicht allzu lang auszudehnen, deshalb entspricht der steile Abfall nach dem 35. Tage nicht der Wirklichkeit.

Formelmäßig ließe sich die Wasserstoffbildung als reine hydrolytische Spaltung des Glukosemoleküles auffassen nach der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O = 6\,CO_2 + 12\,H_2$$

Dementsprechend mußte volumetrisch die Wasserstoffmenge die Kohlendioxydmenge überwiegen; bei gewogenen Mengen ist das Verhältnis natürlich umgekehrt. In letzterem Falle ergibt sich nach der Gleichung ein Verhältnis von Kohlendioxyd zu Wasserstoff wie 11 : 1, während der Versuch tatsächlich ein Verhältnis von 70 : 1 im Endergebnis zeigt. Es ist etwa sechsmal so viel Kohlensäure entstanden, was in einer Reihe von Nebengärungen seine Begründung findet.

Wie schon erwähnt, entstehen bei der Wasserstoffgärung der Zellulose neben den genannten gasförmigen Produkten noch erhebliche Mengen von Fettsäuren, die jene bei der Methangärung erhaltenen weitaus übertreffen. Es handelt sich dabei in erster Linie um Essigsäure und um Buttersäure. Außerdem wird noch in geringer Quantität eine höhere Fettsäure gebildet, die wahrscheinlich Valeriansäure ist.

Bei beiden genannten Zellulosezersetzungsprozessen sind Bakterien tätig, die die Zellulosegärung wahrscheinlich durch ein besonderes Enzym, die Zellulase, beschleunigen. Bisher ist es aber nicht ge-

lungen, ein Zellulose spaltendes Enzym aus solchen Bakterien zu erhalten oder die Gärung unabhängig von den lebenden Zellen einzuleiten und durchzuführen. Es dürfte sich um ein nur in sehr geringen Mengen erzeugtes und in die nächste Umgebung wirksam abgegebenes Enzym handeln.

Als Zwischenprodukt bei der Zellulosegärung entsteht zuerst das Disaccharid Zellobiose. Durch die Zellulase wird die hydrolytische Spaltung der Zellulose in Zellobiose beschleunigt. Die Zellobiose zerfällt unter Wirkung des bereits besprochenen Emulsins nach E. Fischer in zwei Moleküle Glukose, welche der weiteren Zersetzung unterliegen, wozu einerseits die echten Zelluloseersetzer und andererseits auch viele andere Bakterien befähigt sind. Groenewege konnte nachweisen, daß den meisten Emulsin führenden Mikroben die Fähigkeit innewohnt, auch die Zellobiose zu Glukose zu spalten und daß auch die Erreger der Wasserstoff- und Methangärung Amygdalin in Glukose, Benzaldehyd und Blausäure zerlegen können. Als Zersetzer der Zellobiose wurden Vertreter der

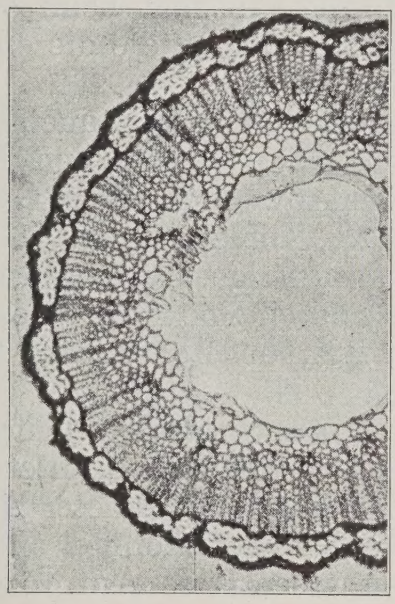


Fig. 138.

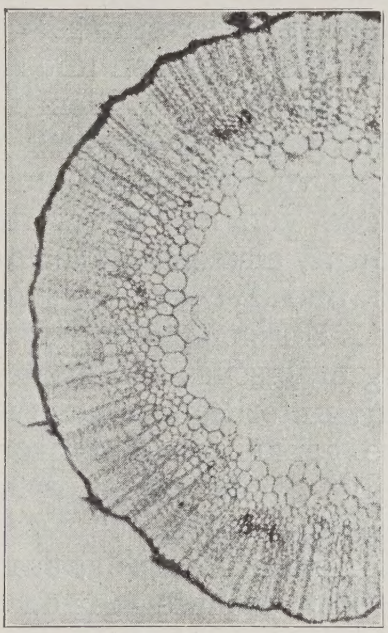


Fig. 139.

Gruppe des Bacillus cellobiosae erkannt und eingehend untersucht, wobei es sich herausstellte, daß diese sporenbildenden Arten Zellulose selbst nicht zu vergären vermögen und ihnen erst das erste Hydrolysationsprodukt derselben, die Zellobiose, zugänglich ist. Die Giftigkeit der Amygdalin führenden Pflanzenteile besonders für die Pflanzenfresser scheint gerade den Zellulosevergärern des Darmtraktes zuzuschreiben zu sein, die eben nicht nur die Zellulose abbauen, sondern auch das Amygdalin, wobei die giftigen Produkte entstehen.

Im Vergleich zur Methangärung ist die Wasserstoffgärung der Zellulose bedeutend weniger ergiebig und wirksam. Dementsprechend erscheint die Annahme gerechtfertigt, daß auch in der Natur bei der anaëroben Zellulosezersetzung der Hauptanteil der Methangärung zufällt.

Omelianski untersuchte auch das Vorhalten von Zellulose in den Pflanzenstengeln gegenüber der Wirkung der Methan bildenden Bakterien. Als Versuchsobjekt dienten ihm Leinstengel, die er, zu Bündeln mit dünnen Platindrähten vereint, in der oben bezeichneten

mineralischen Nährlösung der reinen Methangärung unterwarf. Es wurde dabei die gesamte Zellulose herausvergoren, wie aus den Querschnitten bei schwächerer Vergrößerung zu entnehmen ist. Aus den beiden Mikrophotogrammen des genannten Autors, die in den Figuren 138 und 139 wiedergegeben sind, ist dies deutlich zu entnehmen. Figur 138 zeigt uns einen Querschnitt durch den unveränderten Flachsstengel, der außen unter der Epidermis die Bastfaserbündel deutlich erkennen läßt. Figur 139 entspricht dem Querschnitt des angegorenen Stengels, an dem von den Bastfasern nichts mehr zu erkennen ist.

Neben den genannten anaëroben Bakterienarten spielen auch aërobe Bakterien bei der Zellulosezersetzung eine nicht zu unterschätzende Rolle. Van Iterson isolierte ein ein braunes Pigment erzeugendes Bakterium, Bacillus ferrugineus, das Filtrierpapier ebenfalls vergor und dies besonders bei gleichzeitiger Gegenwart eines gelbwachsenden Mikrokokkus ausführte. Diese Begleitbakterie hatte aber selbst nicht die geringste Zellulose spaltende Eigenschaft. Es zeigt sich überhaupt in der Natur sehr häufig, daß Mikroorganismen beim Zusammenleben Umsetzungen und Zersetzungen hervorbringen, die die einzelne Bakterienart für sich allein nicht zu leisten vermag.

Eine **gemischte Methan-Wasserstoffgärung** erhält man auch durch Versetzen von Gummilösungen mit Schlamm. Nach den Untersuchungen von Popoff werden dabei unter Anwendung von Gummi arabicum, also einem Hexosan, 76,2—91,1% Kohlendioxyd, 6—6½% Methan und 2,4—17,8% Wasserstoff als gasförmige Gärungsprodukte gebildet. Übrigens konnte Omelianski auch durch eine reine Methangärung arabisches Gummi zersetzen. Auch Pentosane, wie das Holzgummi, unterliegen einer Sumpfgasgärung.

Die genannten Zellulose- und Gummigärungen verlaufen am besten bei Temperaturen zwischen 30 und 36° C. Man beobachtete aber auch Gärungen von Zellulose und anderen Verbindungen dieser Art bei weit höheren Temperaturen, wie Hubert zeigen konnte. Er ließ durch drei Monate Stroh in einer fünfprozentigen Ammonium-Kaliumkarbonat-Lösung, die mit Jauche infiziert war, bei 55° C vergären und erhielt dabei eine Abnahme der Zellulose, Vaskulose und des Xylans, wie es die folgende Zusammenstellung zeigt.

Verbindung	Ursprüngliche Menge	Rest nach dem Gärversuch	Vergorene Menge
Zellulose	14,12 g	6,18 g	7,94 g
Vaskulose	14,10 g	11,75 g	2,35 g
Xylan	10,00 g	4,67 g	5,33 g

Diese Gärung verlief ebenfalls unter Methanbildung. Analysen über die Zusammensetzung der gasförmigen Gärprodukte liegen leider nicht vor. Hier wurde die Vaskulose, ein Umwandlungsprodukt des Holzstoffes, am wenigsten angegriffen, während von der Zellulose und dem Xylan verhältnismäßig große Mengen vergoren worden sind.

Sumpfgasgärungen in großem Umfange haben sich auch bei der Bildung der **Kohle** abgespielt, denn darauf deuten die anzutreffenden Grubengasmengen in den Kohlenbergwerken hin. Jedenfalls sind wir aber nicht berechtigt, eine Steinkohlenbildung aus Zellulose durch die

Methangärung anzunehmen. Viel wahrscheinlicher ist die Annahme Ducleaux's, daß in der Kohlenformationszeit sich unter Wasser die Methangärung zwar abgespielt und den größten Teil der Zellulose zu den früher genannten Endprodukten vergoren hat, aber die Kohle selbst aus den dabei übrig bleibenden Pflanzenstoffen, wie Fett-, Kork- und anderen Substanzen entstanden ist, wobei aber die Verkohlung auf Oxydationsprozesse zurückgeht. Das gleiche gilt für die auch jetzt immer zu beobachtenden Verkohlungsprozesse von Grubenhölzern. Experimentell ist bei der Kohlenbildung die Tätigkeit von besonderen Mikroorganismen noch nicht festgestellt worden. Aus eventuellen Bakterienbefunden in Kohle kann gleichfalls auf ihren ursächlichen Zusammenhang mit dem Bildungsvorgang noch lange nicht geschlossen werden.

L. Pektingärung.

Die Gewinnung und Isolierung der technisch wichtigen Fasern aus dem Pflanzengewebe erfolgt teils mechanisch, teils auf chemischem oder biologisch-chemischem Wege. Rein mechanisch trennt man die Faserbündel z. B. beim Mauritius-Hanf, der aus den Fasern des Blattes von Foucroya gigantea besteht. Aus der Musa textilis erhält man die den Manilahanf bildenden Faserbündel durch Abschaben des Parenchyms. Für die Gewinnung der meisten Gespinstfasern dikotyler Pflanzen, wie Hanf, Flachs, Jute usw., kommen mikrobielle Umsetzungen in Frage, mit Hilfe derer die Kittsubstanz der Bastfasern gelockert und gelöst wird, so daß die Trennung dann leicht durchgeführt werden kann. Wie oben schon angedeutet, unterscheiden sich diese biologischen Methoden wesentlich von chemischen und physikalischen Aufschließungsmethoden, die besonders in neuester Zeit als allerdings nicht vollwertiger Ersatz der ersteren versucht worden sind. Sie können hier vollkommen übergangen werden.

Die Kittsubstanz der Faserbündel in der Pflanze besteht aus den „Pektinen", komplexen, wasserunlöslichen Kohlenhydraten, die die Mittellamelle vornehmlich zusammensetzen. Die Lösung derselben bewirkt eine Befreiung der Bastfaserbündel. Dort setzt die mikrobielle Tätigkeit in der Weise ein, daß eine Vergärung der Pektinsubstanzen herbeigeführt wird. Diesen Vorgang bezeichnet man kurz als Pektingärung. Dieselbe wird als natürlicher Prozeß auch bei dem Abbau von Pflanzenteilen im Freien eine wesentliche Rolle spielen.

Man bezeichnet nun alle Maßnahmen zur Gewinnung der Gespinstfasern aus den pflanzlichen Geweben, bei denen die Lockerung und Befreiung der Bastfasern mit Hilfe der Pektingärung vor sich geht, als natürliche Röstverfahren oder Röste, wofür auch die Benennungen Rotte oder Rötze gebräuchlich sind.

Bevor auf die Pektingärung selbst eingegangen wird, sollen die wichtigsten Rottearten kurz geschildert werden. Wohl das technisch wichtigste und aussichtsreichste Verfahren ist die Wasserrotte oder -röste. Dabei

wird die betreffende Pflanze unmittelbar in stehendes oder nur mäßig fließendes Wasser für längere Zeit eingebracht. Wenn der Prozeß in nicht besonders erwärmtem Wasser durchgeführt wird, spricht man auch von Kaltwasserröste, die wieder einige Abarten aufweist. Zur Beschleunigung des Vorganges verwendet man auch künstlich auf 30—32° C erwärmtes Wasser; in diesem Falle handelt es sich um die Warmwasserrotte. Zur Erhöhung der Gärwirkung hat man mit mehr oder minder großem Erfolg auch Zusätze zum Rottewasser in Form von Harnstoff oder Alkalisalzen versucht. Auch wurden zu diesem Zwecke Beigaben von Schlamm oder Erlenblättern empfohlen.

Die Landrotte besteht darin, die für die Fasergewinnung bestimmten Pflanzen auf Wiesen und Äckern der natürlichen Befeuchtung durch Regen und Tau auszusetzen. Die Entwicklung der mikrobiellen Flora ist hier eine langsame und dementsprechend der Verlauf des ganzen Gärprozesses ein länger dauernder und gleichzeitig milder. Die dabei tätigen Bakterienarten müssen entsprechend der herrschenden Jahreszeit und der großen Durchlüftung von den bei der Wasserrotte sich einstellenden verschieden sein. Auch sind die Ernährungsverhältnisse für die Mikroben der Landrotte wesentlich anders geartet. Die Landrotte selbst bezeichnet man als Winterlandrotte dann, wenn dieselbe in der kalten Jahreszeit durchgeführt wird und als Taurotte, wenn die Durchführung in die warmen Monate fällt.

Hier ist noch die sogenannte gemischte Rotte zu erwähnen, bei der Hanf oder Flachs zuerst durch eine Wasserröste angerottet und die Fertigrottung durch eine milde wirkende Taurotte erreicht wird.

Die Fähigkeit der hydrolytischen Pektinspaltung ist im Reiche der Bakterien weit verbreitet, findet sich aber auch bei einigen Schimmelpilzen. Bei der Wasserröste herrschen unter normalen Verhältnissen die bakteriellen Spaltungen vor. Dabei sind in erster Linie anaërobe und fakultativ aërobe Bakterienarten tätig. Nach Ruschmann zerfällt der ganze Vorgang der Wasserröste in drei Phasen. Die erste Phase stellt einen physikalischen Vorgang der Auslaugung der unter das Wasser gebrachten Pflanzen vor. Dadurch wird eine Reihe von gut nährenden Salzen und organischen Verbindungen aus der Pflanze gelöst. Sie verleihen dem Rottewasser den Charakter eines Nährbodens für Spaltpilze. Besonders die in Lösung gegangenen Zucker ermöglichen eine schnelle und üppige Entwicklung von Bakterien aus der Gruppe des Bacillus coli und der fluoreszierenden Wasserbakterien. Damit setzt der zweite Abschnitt des Röstvorganges, die sogenannte „biologische Vorphase", ein. Entsprechend dem Überwiegen der vorgenannten Bakterienarten ist dieselbe auch durch das Auftreten der aëroben Bakterien charakterisiert, die für die eigentliche Pektingärung keine Rolle spielen. Dieser Vorphase schließt sich die „biologische Hauptphase" an. Dieselbe ist durch Hervortreten der eigentlichen anaëroben oder aëroben Rottebakterien gekennzeichnet. Prinzipiell werden alle Wasserrösteartenarten dieselben Phasen aufweisen, wenn auch gewiß Verschiebungen im zeitlichen Ablauf und dem mehr oder minder scharfen Übergang von einer Phase zu anderen zu verzeichnen sein werden.

Im Laufe der Zeit sind nun eine Reihe von Spaltpilzen als Erreger der Wasserröste bekannt geworden. Als sehr wirksame Pektinvergärer haben sich Bakterien erwiesen, die dem Bacillus asterosporus nahe

stehen, in welche Gruppe auch der Bacillus macerans Schardinger und der Bacillus Comesii Rossi gehören. Hier ist auch die Gruppe des Bacillus mesentericus zu erwähnen. Diese Arten zeichnen sich besonders durch eine große Weite hinsichtlich ihres Sauerstoffbedarfes aus, der sowohl unter Atmosphärendruck als auch unter sehr verminderter Spannung für sie verwertbar ist.

Eine zweite Gruppe von Rottespaltpilzen bilden Vertreter der Amylobacterarten, welche alle anaërob sind und Jogen und Glykogen speichern. Hier ist zu nennen der Bacillus amylobacter van Tieghem, dessen Beschreibung eine scharfe Abgrenzung wohl nicht zuläßt. Beijerinck und Van Delden beschrieben als spezifischen Erreger der Wasserröste des Flachses das Granulabacter pectinovorum, eine große, endständige Sporen bildende anaërobe Bakterienart, die sie auf Malzextrakt-Agar, dem kohlensaurer Kalk zugesetzt worden ist, reinzüchten konnten. In Figur 140[1]) sind die sporentragenden Stäbchen nach Beijerinck und Van Delden bei 650facher Vergrößerung abgebildet. Bei Anwesenheit von Pepton oder Eiweiß im Nährboden spaltet Granulabacter außer Dextrose und Lävulose noch Galaktose, Laktose und Maltose. Das Pektin wird von ihm zuerst zu einfacheren Zuckern hydrolisiert, die dann unter Buttersäurebildung weitervergoren werden. Vorher hatte nach Winogradskys Mitteilung Fribes bereits eine dem Granulobacter pectinovorum sehr ähnliche Bakterienart beschrieben. Ein ähnlich geformtes, ziemlich großes Stäbchenbakterium, das Plectridium pectinororum, wurde bei der Flachsröste von Störmer isoliert und beschrieben. Es besitzt als Sporenmutterzelle eine Trommelschlägergestalt. Es ist anaërob und braucht komplexe organische Stickstoffquellen, wie Peptone und Albumosen. Es vermag komplexe Kohlehydrate, wie Pektin, Reisstärke, Dextrin, dann Raffinose, Saccharose, Maltose, Arabinose, Galaktose und Dextrose zu vergären, während Glyzerin, arabisches Gummi und Zellulose nicht angegriffen werden. Die einfachen Zucker werden von ihm unter Bildung von Kohlendioxyd und Wasserstoff neben Essigsäure, Buttersäure und wenig Milchsäure zersetzt. Behrens isolierte bei der Wasserröste des Hanfes ein dabei wirksames Clostridium, das streng anaërob wächst. Bei der Sporulation nimmt es Spindelgestalt an. Es verlangt als Stickstoffquelle Pepton oder Eiweißkörper und vergärt unter kräftiger Gasbildung die einfachen Zucker, nach vorheriger Inversion Rohrzucker, Milchzucker und durch hydrolytische Spaltung Kartoffel- und Reisstärke. Xylose, Arabinose, arabisches Gummi, Quittenschleim, Zellulose und Kalziumlactat werden von ihm nicht angegriffen. Dieses Clostridium rottet den Hanf

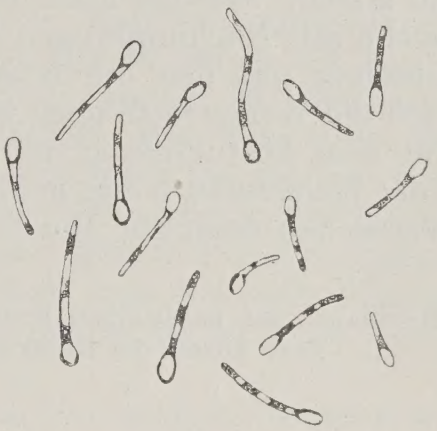


Fig. 140.

1) Die Figur stammt aus dem Handbuch d. techn. Mykologie v. Lafar, Bd. 3, S. 278, Behrens, J., Die Pektingärung.

leicht und gut, weniger den Flachs. Damit ist die Reihe der genauer untersuchten anaëroben Rottebakterien erschöpft, die hinsichtlich der Blau- bis Violettfärbung ihrer Reservekohlehydrate durch Jod eine gewisse Ähnlichkeit mit den Amylobakteren aufweisen.

In dieser Hinsicht wesentlich anders verhält sich der anaërobe Bacillus felsineus Carbone, welcher ebenfalls als Rotteerreger beschrieben worden ist. Bei ihm zeigen die stickstofffreien Reservestoffe niemals eine blaue Färbung bei der Behandlung mit Jodlösungen.

Die Sicherung des Betriebes bei der Wasserrotte, der ja unter niederer Sauerstoffspannung verläuft, richtet sich vornehmlich gegen das sehr schädliche gleichzeitige Auftreten der Zellulosegärung, die das Produkt sehr beeinträchtigen kann. Wenn man die normale Rottedauer bei der Wasserröste mit etwa fünf Tagen bemißt, so ist allerdings diese Zeit wohl meist zu kurz, um eine intensivere Zellulosegärung aufkommen zu lassen. Wie die nach den Störmerschen Angaben ausgeführten Versuche mit Nachimpfungen seines Plectridium pectinovorum in Verbindung mit den die Röste fördernden Begleitbakterien ergaben, läßt sich die Wasserröste noch wesentlich abkürzen, wenn überdies gleichzeitig für eine Abstumpfung der entstehenden Säuren durch Zusatz von Soda oder Kalziumkarbonat gesorgt wird. Folgende Zahlenangaben aus diesen Versuchen seien zur Illustrierung der Verhältnisse hier angeführt:

	Stunden:
Röstdauer der natürlichen Röste ohne Zusatz	120
„ nach Zusatz der Reinkultur von Plectrid. pectinov.	101
„ „ „ „ „ „ „ „ + Begleitorganismen	83
„ „ „ „ „ „ „ „ + „ + $CaCO_3$	75
„ „ „ „ „ „ „ „ + „ + Na_2CO_3	80
„ der natürlichen Röste + $CaCO_3$	85
„ „ „ „ + Na_2CO_3	75

Die Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß die Schnelligkeit allerdings durch kräftige Beimpfung allein auch gesteigert werden kann, daß aber weiter die Abstumpfung der Säuren durch $CaCO_3$ fast ebenso beschleunigt und diejenige durch Soda auch das Minimum an Zeit für die Röste herbeiführt. In letzterem Fall dürfte neben der Neutralisation auch die von vornherein herbeigeführte schwache Alkaleszenz das Bakterienwachstum mächtig fördern, was gewiß die Beschleunigung des ganzen Vorganges auch ohne Beimpfung herbeiführt.

In den letzten Jahren wurde ziemlich viel über die Wasserrotte mit aëroben Röstebakterien gearbeitet, wobei man durch die Verimpfung des Rottewassers mit Bacillus Comesii Rossi den aëroben Rottenvorgang besonders zu fördern trachtete. Man versuchte dazu auch andere aërobe Rösteerreger zu gebrauchen. Um den luftliebenden Rottebakterien die Lebensbedingungen besonders günstig zu gestalten, wird nach Rossi das Röstewasser für Flachs und Hanf künstlich durchlüftet. Die vergleichenden Versuche haben ergeben, daß selbst die streng anaëroben Pektin zersetzenden Bakterien, die von Haus aus an dem Flachs oder Hanf sich befinden, unter diesen Umständen nicht völlig ausgeschaltet werden. Es scheint die Durchlüftung viel eher dahin zu wirken, daß die weitere Zersetzung der Gärungsprodukte dadurch beschleunigt oder angeregt wird, wodurch eine Anhäufung derselben vermieden wird. Übrigens versucht man auch eine Neutralisation der sauern

Stoffwechsel-Gärprodukte, um alle die Faser selbst schädigenden Einflüsse auf das Mindestmaß herabzusetzen.

Beim biologischen Röstverfahren stellt sich, wie oben angedeutet, immer eine mehr oder minder starke Säuerung des Rottewassers ein, die einmal auf die aus den Pflanzenteilen zu Beginn des Verfahrens herausgelösten organischen Säuren zurückgeht und dann in den Gärprodukten bei der Röste selbst ihre Ursache hat. Dadurch, daß man nach Ruschmann das erste Röstwasser nach einer versuchsmäßig bestimmten Zeit entfernt und durch neues, frisches ersetzt, erreicht man eine Ausschaltung der zuerst aus den Pflanzenstengeln herausgelösten organischen Säuren und derjenigen Säuremengen, die sonst in der ersten Phase der Wasserröste durch Vergärung der ausgelaugten Kohlehydrate entstehen. In der Folge geht die Säurebildung im Stengel vor sich, aus dem die bei der Pektinvergärung entstehenden Säuren heraus diffundieren. Im Röstewasser können diese Säuren biologisch in einfache, unschädliche Verbindungen übergeführt werden. Bei dieser Durchführung der Röste zeigten die Fasern eine erhöhte Reißfestigkeit. Daher ist eine entsprechende Entsäuerung sehr wertvoll und nützlich. Hier kann auch die Nachbehandlung noch besonders dadurch günstig gestaltet werden, daß die Fasern nach der Rotte bei möglichst hoher Temperatur getrocknet werden. Durch die hohe Temperatur bei dieser künstlichen Trocknung werden die Säurereste aus der Faser ausgetrieben, ohne durch die Wärme letztere zu schädigen. Nach Ruschmann wurden so die höchsten Reißfestigkeitswerte erzielt.

Ruschmann hat bei der mit Verimpfung von aëroben Rottebakterien und künstlicher Durchlüftung durchgeführten Wasserröste eine wesentliche Herabsetzung der Gefahr des Überrottens beobachtet. Inwieweit dies nur auf eine Verminderung der Säuremengen zurückzuführen ist oder ob dabei die durch die zahlreichen aëroben Bakterien verursachten mannigfaltigen Nebengärungen auch mitwirken, kann heute nicht entschieden werden.

Wie schon angedeutet, ist die Mikrobenflora der Taurotte, also der Landrotte, eine wesentlich andere. Hier treten die Spaltpilze als Pektinvergärer in den Hintergrund. Störmer schreibt zwar dem Plectridium pectinovorum, einem strengen Anaërobier, den Hauptanteil auch bei der Taurotte des Flachses zu, weil er dasselbe im taugerotteten Flachs nachweisen konnte. Dies ist aber durchaus kein zwingender Beweis für die Wirksamkeit dieses Mikroben bei der Landrotte. Haben doch die von Steglich angestellten Versuche ergeben, daß eine reichliche Impfung des Flachses mit dem Plectridium zu keiner Beschleunigung oder sonstigen Beeinflussung des Taurottevorganges geführt hat.

Nach den Untersuchungen von Behrens ist für Hanf anzunehmen, daß für die Taurotte in erster Linie höhere Pilze in Frage kommen, vor allem Mucorineen, die die Fähigkeit der Pektinvergärung vielfach besitzen. Dasselbe gilt auch für die Taurotte des Flachses. So konnte besonders bei der sommerlichen Taurotte der weitverbreitete Rhizopus nirgicans als wirksam nachgewiesen werden. Wehmer hat als wirksamen Pilz bei der Winterlandrotte den Mucor hiemalis nachgewiesen. Beide Schimmelpilze vergären speziell das Pektin, ohne die Zellulose anzugreifen. Mucor hiemalis ist überdies befähigt, sich

noch bei den Temperaturen des Eisschrankes zu vermehren, weshalb er eben für die Winterlandrotte so bedeutungsvoll ist.

Es wurde dann noch eine Anzahl von Pilzen beschrieben, wie Cladosporium herbarum auf Flachs, dann Penicillium glaucum und Mucor mucedo, denen ebenfalls die Fähigkeit zukommen soll, die Pektinsubstanz der Mittellamelle zu lösen. Das Cladosporium besitzt nach Behrens von den genannten Arten am wenigsten pektingärende Eigenschaften und ist eher als Schädling zu betrachten, da es zwischen die Bastfaserbündel eindringt und dort die Faser dunkel verfärbt. Der sogenannte Schwarzhanf ist das Produkt einer Taurotte, bei der vornehmlich dieser Pilz tätig ist. Übrigens vermögen die soeben genannten Schimmelpilze auch die Zellulose mehr oder weniger kräftig anzugreifen.

M. Bakterielle Zersetzungen unter Wärmeentwicklung.

Vielfach sind mikrobielle Vorgänge an zusammengelagerten gärfähigen organischen Substanzen mit dem Auftreten starker Erwärmungen verbunden. Hier ist zu nennen die Selbsterhitzung, bzw. Selbstentzündung von halbtrockenen organischen Körpern, dann die Tabakfermentation, die Braun- und Brennheubereitung und vielleicht auch die Kaffee- und Kakaofermentation.

A. Selbsterhitzung.

Überall, wo größere Massen mehr oder weniger feuchter Pflanzenteile, Fasern tierischer und pflanzlicher Herkunft oder überhaupt zersetzungsfähige organische Substanzen sich zusammengelagert vorfinden, stellt sich eine **Selbsterhitzung** derselben ein. Allbekannt sind diese Erscheinungen an Heu- und Misthaufen, dann an in großen Mengen gelagerten Baumwollabfällen u. dgl. Dabei kann die Erwärmung so weit steigen, daß es zu einer Selbstentzündung dieser Massen kommt. Alle diese Vorgänge sind teilweise biologischer und teilweise rein chemischer Natur.

Wenn es sich um frische, noch überlebende Pflanzenteile handelt, werden die Enzyme derselben noch einige Zeit weiter in Tätigkeit bleiben und durch den Atmungsprozeß beträchtliche Wärmemengen zu liefern vermögen. Außerdem spielt dabei gewiß eine Reihe von Mikroorganismen mit, die wir kurzweg als thermogene Bakterien bezeichnen können. Wenn es sich um eine Selbsterhitzung bereits getrockneter oder vorher durch Hitze sterilisierter Pflanzenteile handelt, dann wird wohl die Hauptrolle bei der Erwärmung der Mikrobenflora zukommen, wie aus zahlreichen Versuchen der Forscher zu entnehmen ist. Daß sich dabei gewiß auch chemische Prozesse außer der mikrobiellen Tätigkeit abspielen, kann nicht geleugnet werden. Von ausschlaggebender Bedeutung sind letztere allerdings nur bei den über der Koagulationstemperatur des Eiweißes steigenden Erhitzungen der genannten Substanzen.

Wir wollen uns zunächst kurz mit einigen thermogenen Bakterienarten befassen, die bei den besser untersuchten Selbsterhitzungsprozessen neben höheren Pilzen gefunden werden. Für die Selbsterwärmung der Baumwollabfälle, Nissel genannt, welche sehr viel Schmutz enthalten, kommen nach Cohn Mikrokokken in Betracht, durch deren Tätigkeit Temperatursteigerungen bis ca. 67° eintraten, sofern der Luftsauerstoff genügenden Zutritt hatte. Für die Erhitzung des Düngers und der Heues macht Cohn sporenbildende Stäbchenbakterien der Gruppe des Bacillus subtilis verantwortlich. Nach den neueren Untersuchungen Miehes sind bei der Selbsterhitzung des Heues mehrere Bakterienarten und Pilze beteiligt, deren Betätigung vornehmlich durch die bereits erreichte Temperatur bestimmt wird. Danach soll die erste etwa 40° erreichende Erwärmung vornehmlich durch eine Varietät des Bacillus coli Escherich, den Bacillus coli Mig. forma foenicula, hervorgebracht werden. Beim weiteren

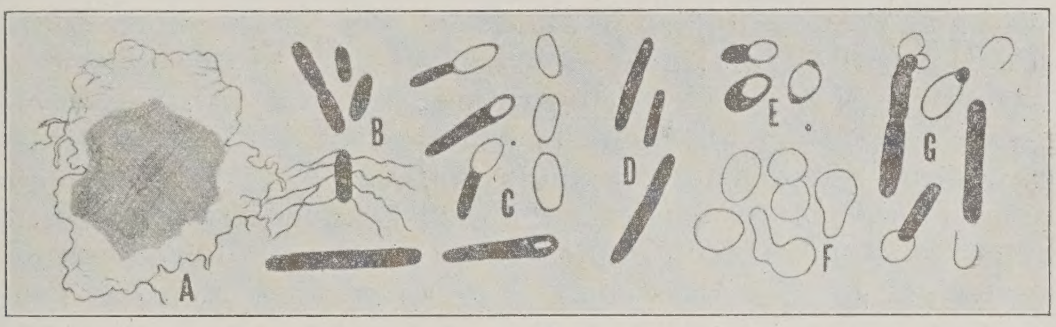


Fig. 141.

Steigen der Temperatur verschwindet er, da sein Temperaturmaximum bei ungefähr 42° C liegt. Erst jetzt tritt der Bacillus calfactor neben den Schimmelpilzen Aspergillus niger und Mucor pusillus in den Vordergrund. Er führt die Erwärmung aber auch nur bis etwa 70° weiter und steht dann in der Entwicklung still. In der Figur 141 sind die wichtigsten morphologischen Merkmale des Bacillus calfactor nach den Angaben Miehes wiedergegeben. Wir sehen in *A* dieser Figur eine Oberflächenkolonie dieser Bakterienart auf Heuagar. Der Bacillus calfactor ist ein bewegliches, mit wenigen Geißeln versehenes Stäbchenbakterium (*B* der Figur 141), dessen Wachstumsweite zwischen 30 und 70° C liegt, wie wir schon früher hörten. Er bildet endständige Sporen, die in *C* der Figur 141 abgebildet sind. Seine vegetativen Formen werden von der Temperatur sehr beeinflußt. Als dünnes, langes Stäbchen (5 : 0,4 μ) wächst er bei 70°, als kurzes und verhältnismäßig dickes Stäbchen beim Temperaturminimum. Wird eine Kultur desselben in tief unter dem Minimum liegende Temperaturen gebracht (8—11°), so wandeln sich die Stäbchen in kugelige und blasige Formen um, wie wir solche sonst dann zu sehen gewohnt sind, wenn wir Bakterienarten über dem Temperaturmaximum züchten. So sehen wir die beim Wachstum bei 70° C gewachsenen schlanken Stäbchen in *D* der Figur 141, während *E* derselben die bereits sporentragenden verdickten Formen zeigt, wie sie in einer viertägigen Zucht bei 30° C zu beobachten sind. *F* gibt blasige Formen wieder, die schon nach 15 Stunden bei einem Aufenthalt in Tem-

peraturen von 8—11° C auftreten. *G* zeigt uns die Sporenkeimung, die bei dieser Art polar erfolgt.

Die mit dem Bacillus calfactor angestellten Stoffwechselversuche haben ergeben, daß derselbe nur bei der Darreichung von Xylose oder Dextrin als Kohlenstoffquelle und von Ammoniak, eventuell Pepton als Stickstoffquelle annähernd so üppig gedeiht wie bei der Kultur in Heuabkochungen.

Nach den Versuchen Miehes mit Gras, Heu und Laub verlaufen wenigstens bei diesen Stoffen die Erwärmungsprozesse in der Weise, daß meist in den ersten Stunden schon ein rasches Ansteigen der Temperatur in den inneren Partien der zusammengelagerten Massen erfolgt, sofern die Ausgangstemperatur derselben keine zu niedrige ist. In der graphischen Darstellung der Figur 142 sind diese Verhältnisse nach den Zahlenangaben Miehes wiedergegeben. Auf der Ordinate finden sich die Temperaturgrade verzeichnet, während die Abszisse die Zeitmarken trägt. Die gestrichelte Linie entspricht einem Versuch mit ziemlich feuchtem Heu, der im Sommer ausgeführt wurde. Die Außentemperatur betrug 23° C. In den folgenden acht Stunden erfolgte ein rapider Temperaturanstieg auf 45°, von da ab stieg die Temperatur in der folgenden 14 Stunden auf 60° und erreichte nach weiteren sechs Stunden ihr Maximum mit 62—75°. Es wurde also die höchste Temperatur nach ungefähr 28 Stunden erhalten. In einem anderen Versuch mit frisch gemähtem Gras, dem die voll ausgezogene Kurve der graphischen Darstellung entspricht, zeigte sich das Temperaturmaximum von 68½° erst nach etwa 54 Stunden. Im Verlauf sind sich beide Kurven aber ziemlich ähnlich und zeigen keine nennenswerten Unterschiede. Im zweiten Fall war aber die Ausgangstemperatur tiefer, denn sie betrug nur 18°. In einem weiteren Versuch mit abgefallenem feuchten, noch saftigen Laub fand die Temperatursteigerung nur langsam, aber dafür sehr gleichmäßig statt, so daß die graphische Darstellung fast eine Gerade ergibt. Die strichpunktierte Linie zeigt uns den Verlauf bis zum Maximum, das erst nach 76 Stunden erreicht wurde. Bei diesem, Ende Oktober angestellten Versuch betrug die Außentemperatur nur 16°. Die mit den Zahlen aus diesem Versuch konstruierte Kurve erscheint doch wesentlich verschieden von den beiden vorgenannten. Es fehlt das früher deutlich ausgesprochene ruckweise Steigen vollständig. Hier kann diesen gleichmäßigen Anstieg unmöglich die relativ tiefe Anfangstemperatur verursacht haben. Die Ursache dürfte eher in der Verschiedenheit des Substrates, in der überlebenden Atemtätigkeit desselben und gewiß auch in der anders zusammengesetzten Mikrobenflora, vielleicht auch in der Menge derselben zu suchen sein, worüber wir aber keine näheren Aufschlüsse haben.

In zahlreichen anderen Fällen treten ebenfalls nicht unbeträchtliche Temperatursteigerungen auf, wie unter anderem bei der Fermentation des Tabaks, bei der Lagerung von größeren Hopfenmassen und auch in den Füllmassen bei der Zuckerfabrikation. In den beiden ersten Fällen scheint die Wärmesteigerung auf die Atemtätigkeit der Pflanzenteile selbst allein zurückzugehen und im letzteren Falle auf chemische Vorgänge in den Füllmassen. Trotzdem finden sich aber in den erwärmten Massen zahlreiche Mikroorganismen, wenn sie auch für die Temperatursteigerung nicht in Betracht kommen. Die auf die anderen

genannten Ursachen zurückgeführten hohen Temperaturen ermöglichen aber erst die Ausbildung und Ansiedlung der „thermophilen Pilzflora", deren Vertreter hohe, über 40—80° liegende Temperaturoptima

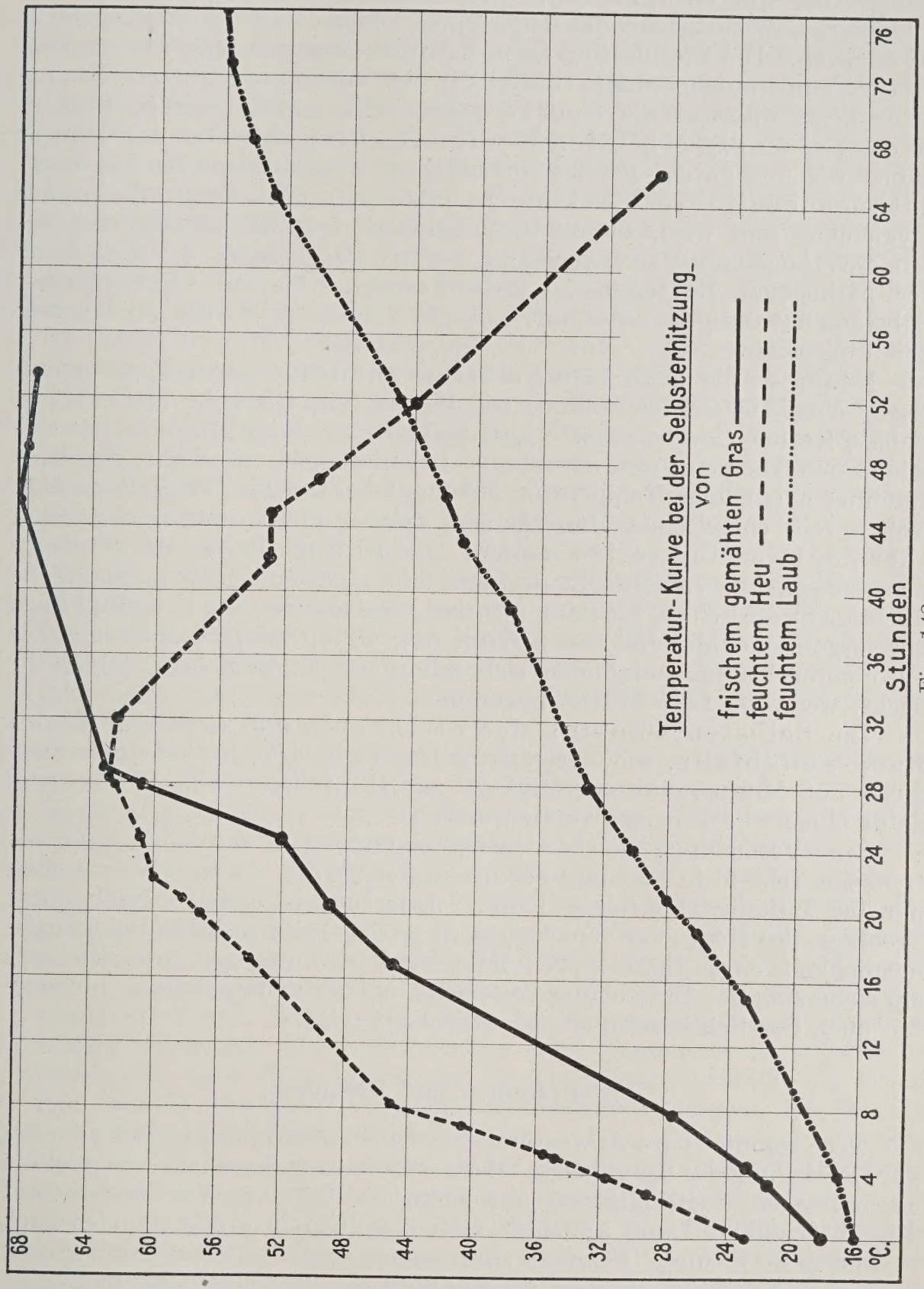


Fig. 142.

aufweisen. Wir haben schon früher thermophile oder hitzeliebende Mikroorganismen kennen gelernt, weshalb hier darauf nicht mehr besonders eingegangen zu werden braucht.

Die früher genannten hohen Temperaturen führen nun einerseits zu einer Sterilisierung der sich spontan erhitzenden Massen, sofern die Erhitzung über 60° C steigt, andererseits haben in nur mäßig erwärmten Substraten, wie Dünger usw., viele pathogene Mikroorganismen Gelegenheit, sich außerhalb des Tierkörpers lebens- und vermehrungsfähig zu erhalten. Die Sterilisation kann natürlich nur jene Mikroben treffen, deren Temperaturmaximum unterhalb der oben angegebenen Temperatur liegt, während die Sporen meist vollkommen erhalten bleiben. In den nur mäßig erhitzten Haufen von Pflanzenstoffen und Dünger haben wir mit gutem Rechte natürliche Standorte mancher tierpathogenen Bakterienarten zu erblicken, weshalb es Sache der Hygieniker sein wird, diesen mutmaßlichen Infektionsquellen ein besonderes Augenmerk zuzuwenden. Auf die Möglichkeit der Erhaltung der pathogenen Bakterien im selbsterwärmten Massen vegetabilischer Substanz hat übrigens schon mit größtem Nachdruck Miehe vor längerer Zeit hingewiesen.

Häufig wurde auch eine Selbstentzündung von aufgestapelten organischen Massen beobachtet, wie Heuhaufen, Getreide, Mehl, Kleie, Tabak, Kaffee, Gewürze usw. Diese Selbstentzündung kann nun bei verschiedenen Temperaturen eintreten. Jedenfalls geht die hohe, zur Entzündung notwendige Temperatur nicht auf bakterielle Tätigkeit zurück. Neben rein chemischen Umsetzungen spielen die thermogenen und thermophilen Bakterien insofern eine wichtige Rolle, als durch sie Zersetzungen hervorgebracht werden, die einerseits leichtentzündliche flüchtige Stoffe liefern, wie Sumpfgas usw., und andererseits in vielen Fällen das organische Material in pyrophore Körper verwandeln. Die pyrophoren Massen entzünden sich schon bei gewöhnlicher Temperatur leicht, wenn die Luft Zutritt bekommt.

Die Selbstentzündung der Steinkohle und auch der öligen Baumwollabfälle, wie ölgetränkter Lappen u. dgl., ist jedenfalls auch nicht auf Mikroorganismentätigkeit zurückzuführen. Auch hier sind dafür chemische Prozesse verantwortlich.

Zur Vermeidung solcher Selbstentzündungen empfiehlt sich die trockene, sehr feste Packung der genannten Stoffe, da eine Entzündung nur bei Luftzutritt erfolgen kann. Jedenfalls ist gerade durch gutes Trocknen des Heues vor dem Lagern in großen Haufen die Entwicklungsmöglichkeit einer thermogenen Bakterienflora hintangehalten, wodurch am sichersten der Entstehung von leicht oxydablen Substanzen und mithin auch der Selbstentzündung vorgebeugt wird.

B. Braunheu und Brennheu.

Eine unmittelbare Anwendung der Selbsterwärmung macht man bei der Herstellung des **Braunheues**. Bei der Bereitung desselben läßt man die geschnittenen Futterpflanzen abwelken, so daß ihr Wassergehalt auf 45—50% sinkt. Dann schichtet man dieselben in größeren oder auch in kleineren Haufen (Feimen) zusammen, deren unterer Durchmesser 3—5 m und deren Höhe etwa 4—5 m aufweist. Es wird dabei das welke Gras sehr fest und hohlraumfrei zusammengepreßt, damit eine Verschimmelung möglichst vermieden und eine Durchlüftung völlig ausgeschlossen wird. Jetzt beginnt sofort eine nennenswerte Erwärmung im Innern

des Haufens, wobei neben den in der Pflanze noch erhaltenen Enzymen besonders die zuvor genannten Bakterien und Pilze tätig sind. Im allgemeinen steigt die Temperatur nicht über 70—80°, welche Höhe bald erreicht ist, und fällt dann langsam ab, wie wir es aus den Kurven der Figur 142 auf Seite 391 nach den Untersuchungen Miehes bereits kennen gelernt haben. Gutes Braunheu besitzt nun eine hell- bis dunkelbraune Farbe und einen angenehmen, an frisch gebackenes Brot erinnernden Geruch. Das Futter erleidet durch die Braunheubereitung mehr oder minder tiefgehende chemische Veränderungen, welche in erster Linie von der Höhe der Erwärmung beeinflußt werden. Diese steigt in den besonders großen Feimen stärker als in den kleineren und kann in den ersteren selbst 90° und darüber erreichen, was aber nicht mehr zweckmäßig ist. Allgemein kann gesagt werden, daß durch die Vorgänge bei der Braunheuherstellung die Verdaulichkeit der Proteine abnimmt. Diese Abnahme ist um so größer, je höhere Temperaturen erreicht werden. Eine gewisse Verminderung der Nährsubstanzen an sich muß naturgemäß mit der Bereitung des Braunheues einhergehen, die weniger die Eiweißkörper trifft als vielmehr die Kohlenhydrate, wie Pentosane, Zucker usw. Andererseits entstehen durch die Tätigkeit der beteiligten Mikroben Stoffwechsel- und Gärprodukte, wie insonderheit Milchsäure und Buttersäure. In geringer Menge entsteht auch eine Reihe von anderen Fettsäuren, wie Ameisensäure, Essigsäure, Valeriansäure und Caprylsäure, dann Bernsteinsäure und endlich Kohlendioxyd. Wenn auch die Eiweißstoffe im allgemeinen weniger angegriffen zu werden scheinen, liegen doch Beobachtungen vor, nach denen Stickstoff bei der Braunheubereitung freigemacht worden ist. In diesem Falle muß wohl eine sehr tiefe Spaltung stickstoffhaltiger Verbindungen des Grases eingetreten sein.

Die Untersuchungen über die bei der Braunheubereitung tätige Mikrobenflora haben die Anwesenheit von Schimmelpilzen (Mucorarten), dann von Heubazillen, von Bacillus mycoides, Granulobacterarten und Kugelbakterienarten ergeben. Außerdem konnte eine thermophile Actinomycesart nachgewiesen werden. Die neueren Untersuchungen der Mikroben des bereits erhitzten Heues zeitigten insofern andere Ergebnisse, als dadurch für diesen Prozeß ein der Erwärmung parallel gehendes Hintereinanderauftreten verschiedener Arten anzunehmen ist. Die Vorwärmung wird etwa bis 40° reichen und eingeleitet durch die in den Zellen des Grases selbst noch überlebend tätigen Enzyme. Diese Erwärmung wird Temperaturen schaffen, bei denen sich eine Flora bildet, die ihr Temperaturoptimum bei 30—40° hat. Nach Miehe spielt in dieser Phase der Erwärmung ein dem Bacillus coli nahestehendes Stäbchenbakterium und eine Mucorart eine Rolle. Bei etwa 40° werden diese Arten durch sporenbildende Stäbchenbakterien und dem Mucor pusillus abgelöst, dessen Temperaturoptimum um 40° C liegt. Von da ab findet sich dann ein sporenbildender, thermophiler Bacillus, der zwischen 40 und 72° C wächst und das Ansteigen der Temperatur in den Grashaufen auf 70° verursacht.

In großen Feimen kommt es häufig zu Erwärmungen, die sogar 90° überschreiten. Durch so hohe Temperaturen bekommt das Braunheu eine schwarze Farbe. Solches Braunheu ist derart verändert, daß

seine Eiweißkörper die Verdaulichkeit fast völlig eingebüßt haben. Es ist für die Ernährung der Tiere fast wertlos geworden. Deshalb soll das Aufschichten nur in kleinen Haufen vorgenommen werden. Diese hohen Erhitzungen über 70° C verursachen nicht mehr Mikroben, sondern rein chemische Vorgänge.

Bei der Bereitung des **Brennheues** wird ebenfalls eine Selbsterhitzung des frisch gemähten Grases absichtlich dadurch herbeigeführt, daß man dasselbe äußerlich trocken in großen Haufen zusammenpreßt und dann so lange in diesem Zustande beläßt, bis im Innern eine Temperatur von etwa 60—70° herrscht. Dabei zeigen die Pflanzen eine braune Verfärbung und dem Grashaufen entströmt ein weinartiger Geruch. Hier ist die rasch auftretende Erhitzung nur zum geringeren Teile der Mikrobenflora zuzuschreiben, sondern in erster Linie der intramolekularen Atmung der überlebenden Pflanzenteile. Schon nach 1—2 Tagen ist meist die erforderliche Erwärmung erreicht, worauf man die Haufen sofort auseinanderwirft und das Heu zum Trocknen breitet. Die heißen und dampfenden Heumassen trocknen infolge der Erhitzung sehr schnell und können so rasch eingeerntet werden. Es ist aber auch hier infolge der Erhitzung eine geringe Abnahme der Verdaulichkeit der Proteinstoffe zu verzeichnen. Die Brennheubereitung führt nur dann zu einem guten Produkt, wenn sie in eine regenfreie Zeit fällt, in der ein Breiten des Heues sofort nach dem Erhitzen möglich ist. Bei Regen findet, wenn überhaupt zum Ausbreiten der Haufen geschritten wird, eine ausgiebige Auslaugung des Heues statt, die es sehr entwertet.

Auch beim gewöhnlichen Hergang der Dürrheubereitung findet ebenfalls eine Art Vorfermentation statt, obwohl die Tätigkeit von Mikroben infolge der rasch einsetzenden Trocknung nur sehr beschränkt ist. Hier spielen in erster Linie die überlebenden Enzyme der Pflanze selbst eine Rolle, die noch während des ganzen Welkprozesses wirksam sind. Erst dadurch erhält das Trockenfutter seine Schmackhaftigkeit. Diese Aromabildung ist in erster Linie auf Spaltungen der Glykoside zurückzuführen, die mit Hilfe der entsprechenden Enzyme, welche die pflanzliche Zelle enthält, verlaufen. Auch wird durch den längere Zeit überlebenden Atmungsprozeß in der geschnittenen Futterpflanze eine Abnahme der Kohlenhydrate herbeigeführt. Diese Verluste lassen sich nur durch eine sehr rasche Trocknung im Sommer vermeiden. So gewonnenes Heu ist aber arm an Geschmackstoffen und Aroma und wird deshalb von den Tieren weniger gern genommen.

Dem zuerst genannten Braunheu sehr ähnlich ist das Grün-Preßfutter oder die „Süß-Ensilage", die vornehmlich in Frankreich und ganz besonders in Amerika empfohlen worden ist. Dabei wurde Gras, dann Grünmais und andere Grünfutterarten in Preßfeimen oder Silos aufgeschichtet und einer raschen Selbsterhitzung auf 50—70° C unterworfen. Hier kommt es wohl nicht durch Bakterientätigkeit zu solch hohen Erwärmungen, sondern vornehmlich durch die Atmung der Pflanzenzellen selbst. Es tritt dabei auch keine nennenswerte Säuerung ein. Man hatte aber erkannt, daß dabei die hohen Temperaturen nicht zweckmäßig sind, wohl aber eine Erwärmung auf nur 25—30° C, wobei auch eine beträchtliche Säuerung eintritt. Auf diese Weise erhält man das Sauerfutter (Silage). Dabei handelt es sich um ein durch mikrobielle Säuerung unter gleichzeitiger Erwär-

mung konserviertes Futter. Außer den genannten Pflanzenteilen finden zur Sauerfutterbereitung auch Rübenschnitzel, Kartoffeln (frisch und gefroren), Möhren, Kohlrüben und Abfälle aus der Stärke- und Konservenfabrikation Verwendung.

In den ersten Tagen tritt in der Silage und im Sauerfutter eine rapide Zunahme der Mikroorganismen auf, so daß deren Anzahl bis zu 1000 Millionen und darüber im Gramm erreicht. Durch eine entsprechend starke Pressung soll erreicht werden, den ganzen Prozeß möglichst anaërob zu gestalten, wodurch in erster Linie eine Zersetzung der Kohlenstoffverbindungen in die Wege geleitet wird. Der Abbau derselben soll vornehmlich Milchsäure liefern. Deshalb sorgt man möglichst für eine genügende Menge von Milchsäurebakterien, was dadurch zu erreichen ist, daß man von vornherein eine „Sauerfutter-Impfkultur" verwendet. Dies ist besonders dann notwendig, wenn das frische Futtermaterial an sich reich an Eiweißstoffen und arm an Kohlenhydraten ist, was besonders für Klee, Wicken u. dgl. gilt. Hat reichlich Grundwasser zu dem in Gruben eingepreßten Futter Zutritt und wird es gar mit Erde oder Rasenstücken bedeckt, dann ist die Gefahr des Überwucherns durch Buttersäurebakterien sehr groß. Solches Sauerfutter ist denn arm an Milchsäure und dafür reich an Buttersäure und Essigsäure, wodurch dasselbe für die Tiere unangenehm wird. Neben der Milchsäure enthält das Sauerfutter noch eine Reihe von anderen Abbauprodukten, wie Äthylalkohol in Mengen bis etwa 0,3% und sehr wenig Valeriansäure. Die Eiweißstoffe werden normalerweise nur in geringem Maße abgebaut. Übrigens sind die Vorgänge in den äußeren Partien der Silage etwas anders als innen. Außen herrschen jedenfalls die mehr luftliebenden Schimmelpilze etwas vor. Auch darf nicht außer acht gelassen werden, daß trotz des Einsäuerungsprozesses durch Mikroorganismen auch die überlebenden Enzyme der verwendeten Futterpflanzen das ihre zu den Umsetzungen beitragen werden. Die entstehende Wärme in den Futtermassen geht hier sicherlich zum großen Teil darauf zurück.

C. Tabakfermentation.

Auch bei der Tabakfermentation und bei dem „Schwitzenlassen" der Tabakblätter tritt eine Erwärmung ein, die aber in letzterem Falle nicht auf Mikroorganismen zurückgeht, sondern auf die überlebenden Blattzellen selbst. Bekanntlich werden die geernteten Tabakblätter oder auch die über der Wurzel abgeschnittenen ganzen Pflanzen an Schnüren aufgehängt in einer Scheune getrocknet. Man bezeichnet diesen Trocknungsprozeß als „Trocknen auf dem Dache". Vor dem Trocknen schaltet man aber auch häufig das „Schwitzenlassen" ein, wobei die Blätter zu kleineren Haufen zusammengeschichtet werden. Die in den welkenden Blättern noch tätigen Enzyme verändern nun den Tabak in der Weise, daß er eine braune Farbe bekommt und daß Umsetzungen an der Stärke der Blätter unter Kohlendioxydabgabe vor sich gehen und die Eiweißstoffe teilweise in Amide abgebaut werden. Die Braunfärbung selbst geht auch beim Trocknen auf dem Dache auf Glykosidspaltungen zurück, die durch Enzyme der Blattzellen unterhalten werden. In diesem Stadium der Tabakherstellung, in der auch eine Erwärmung auftritt, spielen Mikroorganismen höchstens als Schädlinge eine Rolle, indem durch

ihre Tätigkeit die sogenannte Rippenfäule und auch der Dachbrand hervorgebracht werden. Bei der Rippenfäule kommt es infolge von Pilzwucherungen zu einer fauligen Zersetzung besonders schwer trocknender, dicker Tabakblattrippen. Der Dachbrand ist durch das Auftreten von verbrannt aussehenden Flecken auf den Blättern gekennzeichnet. Auch kann es zum „Verbrühen" der Blätter kommen, wenn beim Schwitzen die Temperatur zu hoch steigt. Die Blätter sind dann schwarz. Wir sehen hier also auch Erscheinungen, die mit jenen bei der Braun- und Brennheubereitung große Ähnlichkeit besitzen.

Jetzt erst leitet man die eigentliche Fermentation des Tabaks ein, mit deren Abschluß die Umsetzungen im Tabakblatt ihr Ende erreichen. Man bindet zu dem Behufe die Tabakblätter in Bündel, die nun zu größeren oder kleineren Stöcken geschichtet werden. Je nach dem Wassergehalt der Blätter und der Größe der Stöcke steigt die Temperatur in denselben langsamer oder rascher. Sobald sie etwa 50° C erreicht hat, setzt man die Stöcke um, wobei man die Lagerung so vornimmt, daß die inneren Bündel nun außen zu liegen kommen. Bei der Fermentation erleidet der Tabak nun eine Gewichtsabnahme, die etwa 4—5% beträgt und sich in erster Linie auf das abgegebene Wasser und auf die Trockensubstanz bezieht. Es verschwinden die löslichen Kohlehydrate, während die noch vorhandene Stärke unzersetzt bleibt. Dabei entsteht reichlich Kohlendioxyd. Auch die Salze organischer Säuren werden angegriffen, besonders diejenigen der Zitronen- und Äpfelsäure. Die Eiweißstoffe erleiden eine nur geringfügige, nicht nennenswerte Veränderung, während das Asparagin allerdings umgewandelt wird. Der Gesamtstickstoffgehalt wird also nicht verändert. Vom Nikotin wird allerdings ein Teil aufgezehrt, denn es dient den vorhandenen Mikroorganismen als Stickstoffquelle.

Bei den spontanen Fermentationen des Tabaks finden sich auf den Blättern immer massenhaft oder zumindest sehr zahlreich Bakterien und auch Pilze, die sich sicherlich bei schon verhältnismäßig trockenen Blättern noch gut entwickeln. So konstatierte Behrens, daß auch bei einem Wassergehalt von 25% im Tabak noch eine rege Mikroorganismenentwicklung vor sich geht. Daß die Mikrobenflora für die Verbesserung des Produktes eine einschneidende Bedeutung besitzt, kann ebenfalls als sichergestellt gelten, wenn auch eine Fermentation ohne jegliches Zutun von Mikroorganismen möglich ist. Über die beim Fermentierungsprozeß sich einstellende Mikrobenflora liegen schon zahlreiche Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, daß unter Anwendung bestimmter Bakteriengemische eine Verbesserung des Tabaks möglich ist und damit behandelt, selbst andere Pflanzensorten einen erheblich besseren Tabak ergeben. Das auf Kuba übliche Petunieren ist auch nichts anderes als eine Beimpfung der Tabakstöcke mit einer besonderen Bakterienmischung, wobei man aber nicht von Reinkulturen ausgeht. Man stellt die Petunierungsbrühe in der Weise her, daß man beschädigte Blätter oder zerkleinerte Stengel besonders edler Tabaksorten in Wasser faulen läßt und mit dieser Faulflüssigkeit die Tabakbüschel vor dem Zusammensetzen der Stöcke besprengt, wodurch eine nennenswerte Verbesserung des Produktes erzielt wird.

Die Schnupftabake werden noch besonders fermentiert. Beim Râgé wird der Tabak fein zerschnitten oder gepulvert der Fermentation unterworfen, bei der anfangs, solange die Fermentationstemperatur 40° nicht erreicht, Mikroorganismen tätig sind. Die bei den Temperaturen zwischen 40 und 50° auftretenden Umsetzungen scheinen aber rein chemischer Natur zu sein.

Bei der Fermentation des Schnupftabaks in Form von Karotten dürfte eine alkoholische Gärung sich abspielen, weshalb häufig Hefe zugesetzt wird. Die Karotten sind Bündel von saucierten nassen Tabakblättern, die in Leinen eingebunden sind.

Im allgemeinen ist man sich über die Mikrobentätigkeit bei der Tabakfermentation noch keineswegs im klaren. Es sind noch eingehende Untersuchungen notwendig, um die vielen Fragen in dieser Hinsicht eindeutig zu lösen.

D. Kaffee- und Kakaofermentation.

Kaffee und Kakao werden bei ihrer Gewinnung meist ebenfalls einer Art von Fermentation unterworfen, die aber nicht so sehr zu einer Verbesserung des Produktes führen soll als vielmehr der Erleichterung der Entfernung der Fruchtschale oder deren Teile dient.

Die Verarbeitung der abgeernteten Kaffeefrüchte geschieht im allgemeinen nach zwei Methoden, einer trockenen und einer nassen.

Die Trockenmethode der Kaffeegewinnung besteht darin, die Früchte nach der Ernte in dünner Schicht unter häufigem Umwenden in der Sonne so lange zu trocknen, bis die Samen beim Schütteln in den Pergamentschalen rascheln. Neuerdings wird die Trocknung auch künstlich in besonderen Trockenapparaten durch Erhitzen herbeigeführt. Die trockenen Kaffeefrüchte gelangen dann in eine Schälmaschine, in der die Entfernung des Fruchtfleisches und der Pergamenthaut durchgeführt wird. In weiteren Operationen werden dann die Samenschale und das Silberhäutchen entfernt. Die nunmehr reinen Samen werden poliert, endlich sortiert und versandbereit gemacht. Sehr häufig werden die Kaffeefrüchte vor dem Trocknen zuerst zu großen Haufen zusammengeschichtet; in diesen tritt nunmehr eine kräftige Erwärmung innerhalb von 3—4 Tagen ein, worauf nach dieser Zeit erst die Trocknung in der soeben geschilderten Art vorgenommen wird.

Besonders in Westindien benutzt man die nasse Methode der Kaffeebohnengewinnung, die aus diesem Grunde auch häufig als westindische Methode bezeichnet wird. Dabei werden durch einen mikrobiellen Zersetzungsprozeß die Fruchtfleischreste von den Samen entfernt. Diesen Vorgang bezeichnet man eigentlich als Kaffeefermentation. Die Früchte kommen unmittelbar nach der Ernte in den Despolpador oder Pulper, in dem die Samen aus dem Fruchtfleische hinausgedrückt werden. Von dort gelangen dieselben samt den noch anhaftenden Fruchtfleischresten in die sogenannte Gärzisterne, in der sie 10—60 Stunden verbleiben. Aus der Gärzisterne bringt man die Bohnen in die Waschzisterne, wo das angegriffene und erweichte Fruchtfleisch vollends entfernt wird, bis dieselben nicht mehr schleimig erscheinen. Nachdem von den auf einem Drahtnetz aufgeschichteten Samen das überschüssige Wasser abgetropft

ist, kommen sie zum Trocknen in dünner Lage auf betonierte oder gepflasterte Plätze oder werden im Freien in der Sonne getrocknet. Dann werden sie erst geschält und weiter behandelt.

Bei der Kaffeefermentation tritt zuerst eine kräftige alkoholische Gärung auf, die durch Hefen unterhalten wird. Bei längerer Gärdauer setzt dann die Essiggärung ein. Allerdings soll eine zu starke Säurebildung die Güte des Produktesungünstig beeinflussen. Beide genannten Umsetzungen scheinen aber nicht das Wesentliche der Kaffeefermentation zu sein, sondern, wie schon angedeutet, die Lockerung und Erweichung des Fruchtfleischrestes, damit es zu einer leichten Entfernung des die Testa des Samens umgebenden Schleimgewebes kommen kann.

Wie schon angedeutet, geht die alkoholische Gärung auf Hefen zurück, speziell auf Saccharomyces ellipsoideus und Hansenia apiculata. Die Säuerung wird durch Essigbakterien herbeigeführt. Der ganze Gärprozeß in der Zisterne verläuft bei Temperaturen von 35—41° C.

Die Gewinnung der Kakaobohnen erfolgt im wesentlichen ebenfalls nach zweierlei Methoden, einer trockenen und einer nassen.

Bei der Trockenmethode werden die geernteten Früchte zuerst einer 3—4tägigen Nachreife unterworfen. Dann werden die Samen herausgenommen. Mit der Hand wird das Fruchtmus abgestreift. Die Kakaobohnen legt man dann auf Bambusböden, auf denen sie in der Sonne getrocknet werden.

Bei der Naßmethode unterwirft man die nachgereiften und vom Fruchtmus befreiten Kakaobohnen einer Rotte oder Fermentation, die in erster Linie die vollständige Entfernung des Fruchtmuses erleichtert und auch der Bohne einen bessern Geschmack verleihen soll. Diese Rotte wird in betonierten Gräben oder in besonderen Behältern durchgeführt. In diese kommen die Samen und werden mit Bananenblättern und Tüchern bedeckt. Alsbald setzt eine Selbsterwärmung ein, die etwa 50° C erreichen soll. Steigt die Temperatur höher, so werden die Samen umgeschaufelt, um dadurch dieselbe herabzusetzen. Die Dauer dieser Fermentation beträgt im Maximum ca. 14 Tage und wird wesentlich von der Sorte des Kakaos beeinflußt. Gewöhnlich ist sie nach 2—5 Tagen beendet, was man an der rotbraunen Färbung der Bruchfläche des Samens erkennt; letztere ist im ungerotteten Zustande violett oder gelblich-weiß gefärbt. Eine Überrotte erzeugt an der Samenschale die sogenannten Brandflecke. Nach der Fermentation werden die Kakaobohnen langsam an der Sonne oder in besonderen Trockenräumen getrocknet. Die oben im wesentlichen geschilderten Maßnahmen zeigen vielfach örtliche Besonderheiten, auf die hier nicht eingegangen werden soll.

Bei der Kakaorotte stellte sich eine Reihe von Mikroorganismen ein, deren Tätigkeit zuerst zu einer Alkoholbildung führt, worauf eine Säuerung eintritt. Wie die bei der Rotte auf Ceylon vorgenommenen Untersuchungen ergeben haben, stellen sich bei der Fermentation Hefepilze von ellipsoidischer und zitronenförmiger Form ein, dann Stäbchen- und Kugelbakterien und endlich auch Schimmelpilze. Preyer konnte auf den in der Fermentation befindlichen Kakaobohnen auf Java mehr zylindrische und spindelförmige Hefezellen,

Stäbchenbakterien und Spirillen nachweisen. Daraus wurde auch der Saccharomyces Theobromae Preyer reingezüchtet. Diese Hefe soll sich für die Rotte der Kakaobohne ganz besonders eignen.

Die Säurebildung bei der Fermentation ist das Werk von Bakterien. Man hat als saures Gärprodukt sowohl Essigsäure als auch Milchsäure nachgewiesen.

Die in der Kakaobohne selbst sich abspielenden Veränderungen bei der Fermentation dürften wohl zum allergrößten Teil auf Enzyme zurückzuführen sein, die dem Samen selbst angehören und diesen überlebend nachwirken. Die bei der Rotte erreichte Erhitzung im Verein mit der Alkoholbildung tötet die Samen, ohne dabei die Enzyme derselben zu schädigen. Diese überlebenden Enzyme sind vornehmlich oxydativ tätig, indem durch sie die Oxydation der vorhandenen Gerbstoffe beschleunigt wird. Damit vollzieht sich auch die Entbitterung der Kakaobohnen und ihre Braunfärbung. Dies haben auch Versuche mit Bohnen ergeben, die durch Kälte oder Alkohol zum Absterben gebracht worden sind. Auch an solchen Samen trat die Oxydation der Gerbstoffe mit gleichzeitig einsetzender Entbitterung ein. Werden die Bohnen jedoch auf 75° erhitzt, stellte sich weder eine Braunfärbung noch Entbitterung ein, da durch diese Temperatur bereits eine Vernichtung der Oxydasen herbeigeführt worden ist. Übrigens soll bei der Verfärbung der Bohne auch eine Glykosidspaltung beteiligt sein, indem das Glykosid Cacaonin in Kakaorot, Coffein und Theobromin gespalten wird. Die dabei wirksame Glykosidase gehört dem Samen selbst an.

Bei der Kakaorotte kommt es mitunter auch zu anderen Gärungen, die dann ein minderwertiges Produkt verursachen. An erster Stelle ist hier die Buttersäuregärung zu nennen, durch welche die Bohnen einen ranzigen und kratzenden Geschmack erhalten.

Die Fermentation der Kolanüsse besitzt eine Ähnlichkeit mit derjenigen des Kakaos.

E. Tee- und Vanille-Fermentation.

Eine Art Fermentation wird nun bei der Herstellung des „schwarzen Tees“ angewendet. Im allgemeinen werden die frisch gepflückten Teeblätter welken gelassen, um ihnen den Turgur zu nehmen, damit sie gerollt werden können. Die nunmehr gerollten Blätter werden in einer ungefähr 5 cm dicken Schicht aufgehäuft. In diesem Zustande machen die Blätter einen nur wenige Stunden währenden Fermentationsprozeß durch. Dabei findet die Umwandlung in den schwarzen Tee statt. Die Durchführung der Herstellung ist in den einzelnen Ländern (China, Japan usw.) in den Details etwas verschieden.

So pflegt man z. B. in China den schwarzen Tee so zu bereiten, daß man nach sorgfältiger Sortierung die gepflückten Blätter zuerst auf Bambushürden welken läßt, wobei man den Welkungsprozeß durch Schlagen und Drücken der Blätter zu beschleunigen sucht. Dann reibt man dieselben an der Luft zwischen den Händen durch und füllt sie in Baumwollsäckchen, die in Kisten eingelegt, durch Eintreten mit den Füßen gepreßt werden. Dabei tritt der gerbstoffreiche Zellsaft aus. Die Blätter kommen dann in Körbe, welche mit Filzdecken zugedeckt

werden. In diesem Zustande verbleiben sie 2—3 Stunden, während welcher Zeit die Fermentation erfolgt. Dann erst röstet man sie kurz in flachen Pfannen über einem Holzkohlenfeuer, schüttet sie auf einen Tisch und rollt sie mit den Händen durch. Sie kommen dann neuerlich kurz in die Röstpfannen und werden abermals durchgerollt. Das Rösten und Rollen wiederholt man so lange, bis aus den Blättern kein Saft mehr austritt. Nunmehr erfolgt das endgültige Trocknen bei den feinen Sorten über Kohlenfeuer. Nur die minderen Sorten werden an der Sonne getrocknet.

Die Schwärzung der Blätter geht auf die Wirkung eines oxydierenden Enzyms des Teeblattes zurück. Außerdem scheint eine kräftige Glykosidspaltung einzusetzen, wobei eben das Aroma des Tees durch Bildung des Teeöles zustande kommt. Inwieweit dabei auch noch mikrobielle Einwirkungen beteiligt sind, ist noch nicht eindeutig entschieden. Im chinesischen schwarzen Tee wurde eine Hefenart nachgewiesen, die bei der Aromabildung beteiligt sein soll. Auch konnte man in den meisten billigen Teesorten Bakterien nachweisen.

Bei der Gewinnung der Vanille bedient man sich im allgemeinen zweierlei Methoden, einer trockenen und einer nassen.

Beim trockenen, sogenannten mexikanischen Verfahren werden die sich eben zu bräunen beginnenden Früchte des Vanillestrauches gesammelt und auf Tüchern oder Strohmatten aufgelegt der Sonne zum Trocknen ausgesetzt. Bei Regenwetter geschieht das Trocknen über einem nichtrauchenden Feuer.

Das nasse oder Heißwasserverfahren wird so durchgeführt, daß die Früchte entweder in Körbe eingelegt oder auf Bindfäden aufgereiht einige Male durch je 15—20 Sekunden in 85—90° heißes Wasser eingetaucht werden, um sie rasch zum Absterben zu bringen. Die so vorbehandelten Früchte werden nun in Haufen zusammengelegt und schwitzen gelassen. Dann erst werden sie in Wolltücher eingeschlagen und an der Sonne getrocknet. Jedenfalls spielen bei dieser Art von Fermentation die Mikroorganismen höchstens die Rolle von Schädlingen. Es kann allerdings während dieser Prozeduren eine Tätigkeit der Enzyme der Frucht selbst statthaben, wobei Vanillin gebildet wird. Als Ausgangsprodukt für die enzymatische Vanillinbildung könnte ein Glykosid, bzw. das Coniferin angesehen werden, welches durch Emulsin in Coniferylalkohol und Zucker zerlegt wird. Durch die Wirkung einer Oxydase wird dann der Coniferylalkohol in Vanillin gespalten.

N. Fadenziehen des Brotes.

Dasselbe stellt sich meist in den Sommermonaten, also in der warmen Jahreszeit, ein. Das fadenziehende Brot zeigt an den Bruchstellen beim Auseinanderziehen derselben feine, sich spinnende Fäden. Außerdem machen diese Stellen den Eindruck größeren Feuchtigkeitsgehaltes. Die Rinde zeigt meist überhaupt keine Veränderungen. Die

Krumme ist entweder nur wie durchweicht oder schmutzig verfärbt und schmierig oder zeigt keine nennenswerten abweichenden Erscheinungen. Dem Brot selbst entströmt entweder ein angenehmer, obstartiger aromatischer oder süßlicher, fader Geruch oder endlich ein Gestank nach Baldriansäure oder faulenden Stoffen. Schon diese Erscheinungen deuten an, daß es sich um verschiedene Erreger bei dieser Brotkrankheit handelt. In der Tat hat es sich herausgestellt, daß unter ihnen doch solche Verschiedenheiten in morphologischer und kultureller Hinsicht vorliegen, die eine Unterscheidung in mehrere Arten notwendig machen. Im allgemeinen handelt es sich dabei um sporenbildende Stäbchenbakterien, welche in naher verwandtschaftlicher Beziehung stehen und gewöhnlich in der Gruppe der Kartoffelbazillen vereinigt werden. Dieselben sind entweder aërob oder fakultativ anaërob und vertragen kaum sehr niedrige Sauerstoffspannungen. In der Tabelle auf Seite 402 sind die wichtigsten morphologischen und biologischen Merkmale der meisten bekannteren und genauer beschriebenen Erreger des Fadenziehens beim Brote zusammengestellt. Außerdem sind dort die Erscheinungen verzeichnet, welche sie im Brote hervorbringen.

Einen kleinen Einblick in die morphologischen Verschiedenheiten beim Wachstum auf der Kartoffelscheibe, Agar und in Gelatine von drei verschiedenen Erregern des Fadenziehens beim Brote gestattet die Figur 143. Hier sehen wir in 1 eine 24stündige, bei 37° C gezogene Kartoffelkultur von Bacillus mesentericus fuscus, in 2 eine ebenso alte, unter denselben Bedingungen gehaltene Kartoffelkultur von Bacterium panis und endlich in 3 von Bacillus panis viscosi I. Bemerkenswert ist der Versuch noch deshalb, weil hier Kartoffelzylinder ein und derselben Kartoffel verwendet wurden, um jede Ungleichheit des Nährbodens auszuschalten. Die Unterschiede in der Oberflächenbeschaffenheit der drei Auflagerungen sind so augenfällig, daß darüber weiter nichts zu berichten ist. In 4, 5 und 6 der Abbildung 143 sind gleichaltrige (40stündige), bei 22° C gehaltene Gelatinestichkulturen abgebildet. Man sieht, daß die Verflüssigungskraft bei den drei Arten verschieden ist, am größten beim Bacillus panis viscosi I (6), geringer bei den beiden anderen Bakterien. Auch das Oberflächenwachstum auf Nähragar bei 37° C ist verschieden, wie aus 7, 8 und 9 zu entnehmen ist. Auch die Oberflächenbeschaffenheit der in 24 Stunden bei dieser Temperatur angegangenen Auflagerungen weist Unterschiede auf. Die Bakterien sind auch in dieser Versuchsreihe in derselben Reihenfolge wie früher aufgeführt. Große Verschiedenheiten weisen die auf der Agarplatte entstehenden Kolonien auf, wie es 10, 11 und 12 zeigen. 10 entspricht bei 20facher Vergrößerung der Kolonie von Bacillus mesentericus fuscus. Wir sehen rundliche, vielfach leichtgebuchtete Auflagerungen, deren Oberfläche eine durchwegs körnige Beschaffenheit aufweist. Wesentlich anders sieht die in 11 wiedergegebene Kolonie des Bacterium panis aus; die Auflagerungen sind meist kreisrund, in der Mitte glatt und mit Ringen versehen, während nur der zartere Rand eine körnige Beschaffenheit aufweist. Wieder anders sehen die flächenhaften Auflagerungen des Bacillus panis viscosi I aus, wie es 12 der Abbildung 143 erkennen läßt. Die mittlere Partie der Kolonien zeigt eine leichte Faltenbildung und Äderung, während der Rand ganz glatt aussieht. Auch die einzelnen

Zusammenstellung der morphologisch-biologischen

Name der Bakterienart und Synonyme	Bacillus mesentericus (Flügge) Mig. = B. mesentericus fuscus Flügge	Bacillus vulgatus (Flügge) Mig. = Bacillus mesentericus vulgatus (vulgaris) Flügge	Bacterium mesentericum = Bacillus mesentericus panis viscosi I Vogel
Wurde in fadenziehend. Brot beobachtet von	Juckenack	Kretschmer u. Niemslowicz, Uffelmann, Lehmann	Vogel, v. Czadek und Kornauth
Größe und Form der Stäbchen	0,8—2,4 μ lang, 0,7—0,9 μ breit, mit abgerundeten Enden	1,6—5 μ lang, 0,8 μ breit. Enden nur schwach abgerundet	3—5 μ lang, plump, an den Enden abgerundet
Beweglichk.	Gut beweglich	Beweglich	Unbeweglich
Färbbarkeit nach Gram	Färbbar	Färbbar	Färbbar
Sporenbildung	Rundliche, in der Zelle regellos verteilte endogene Sporen	Große elliptische Sporen	Ovale, mehr i. d. Zellmitte liegende glänzende Sporen
Resistenz der Sporen		Mehrstündig. Kochen soll sie mitunter nicht töten	Nach 1 Stunde im strömend. Dampf b. 100° C noch lebensf.
Gelatineplatte	Rundliche, grau-weiße Kolonieen mit flachem Verflüssigungstrichter	Kolonieen verflüss. d. Gelatine unter Bild. eines zarten, gefältelt. u. festen Häutch. auf der verflüss. Masse	Flach. Verfl.-Tricht. m. grau-weiß. Zentr. u. häutchenart. a. d. Oberfl. d. Gelat. lieg. äußeren Partieen
Gelatinestichkultur	Zuerst schalenförm. Einsenk., dann rasche sackförm. Verflüssigung unt. Bildung eines grauweißen Deckhäutchens	Zuerst grau-weiße, glänzende Auflagerung, dann strumpfförm. Verflüss. m. derbem Häutchen an der Oberfläche	Langsame, strumpfförmige Verflüssigung
Agarplatte	Dünne, rundl., durchscheinende, graue Auflager. m. verdickt. weißl. Zentrum	Glattrandige, ziemlich dicke, weiß-graue Auflagerungen	Grau-braune, grobkörn. Kol. m. gewundenen u. zart. Ausl. i. d. umg. Nährbod.
Agarstrichkultur	Feuchtglänz., gelbbraun b. grau gefärbter, wellig. Belag	Üppiger, welliger, gelappt. Belag mit unregelmäßig. Falten	Blau-grauer, durchscheinender Belag
Bouillonkultur	Mäßige Trübung m. Hautbildung an der Oberfläche	Schwache Trübg. Festes grau-weißes Häutchen	Gutes Wachstum
Kartoffelscheibenkultur	Anfangs flache, glänzende grau-gelbliche Auflager., später unregelmäß. Maschenwerk v. gelb-grauer Farbe u. matt. Aussehen	Darmschlingenähnl. Belag von weißlich-grauer, gelbl. od. rosa-bräunl. Farbe. Manchmal ist derselbe schleimig	Anfängl. weiß, dann grau verfärbt; mehr schmierig. Spät. parallel verlauf., oft seidenglänz. Falten
Milchkultur	Ausfällung des Kaseins	Schleim. geronnen, später Lösung der Koagula	Ausfäll. d. Kaseins u. nachh. Lös. desselb.
Anaërobes u. aërobes Wachstum	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Schlechtes Wachstum bei Sauerstoffabschluß	Streng aërob
Temperaturoptimum			35—37° C
Erscheinung bei der Brotzersetzung	Krume m. zahlr., bräunl. Pünktch. durchsetzt. Dabei ekelerreg. aromat. Geruch. Reakt. d. viscös. Partieen schwach sauer	Krume in eine klebrige, fadenziehende Masse von bräunlicher Farbe verwandelt. Dabei eigenartiger Geruch	Zersetz. d. Brotkrume unt. Bild. eines unangenehmen, widerlich. Geruchs. Krume stark fadenziehend

Daten einiger Erreger des Fadenziehens beim Brote.

Bacillus panis (Vogel) Mig. = Bacillus mesentericus panis viscosi II Vogel	Bacillus liodermos Flügge = Gummibacillus Löffler	Bacterium panis Fuhrmann
Vogel, Thomann	Uffelmann	Fuhrmann
4—7 μ lang, schlank	2—5 μ lang, 0,8 μ breit	2—4 μ lang, 1—1,2 μ breit, abgerundete Enden
Lebhaft beweglich Färbbar	Beweglich	Nicht beweglich Färbbar
Ovale, hellglänzende Sporen	Endogene Sporen	Ovale endogene, in der Zellmitte liegende Sporen
Übersteh. n. eine Einwirk. d. ström. Wasserdampfes bei 100° C von 15 Min.		25 Minuten gegen strömenden Wasserdampf von 100° C
Flacher Verflüssigungstrichter. Ausläufer in die umgebende Gelatine	Weiter Verflüssigungstrichter. Die trübe Flüssigkeit ist von einer grau-weißen Haut bedeckt	Seichte, scharf begrenzte Verflüssigungsdellen, von einer schwach getrübten Flüssigkeit erfüllt. Später zartes Häutchen
Energische, strumpfförmige Verflüssigung		Zuerst flache, breite Verflüssigungsdelle um den Impfstich, dann sackförmige Verflüssigung, zartes Häutchen
Kolonieen mit dunklem Kern und zarten Ausläufern		Entwed. runde, grau-weiße, trokkene, an d. Rändern zarte Auflagerung m. verdickt. Mitte, od. schneekristallart. feuchte, glänz. Kolon.
Trockener, grau-weißer Rasen		Weiß-gelb durchschein., wachsartige dünne Auflagerung. Kondenswass. leicht getrübt, zart. Häutch. darauf
Kräftiges Wachstum		Mäß. Trüb. i. d. oberflächl. Flüssigkeitsschicht., dünn. Deckhäutchen, gelb-weißer Bodensatz
Anfänglich schleimiger, grauer Belag, spät. grauweiß und faltig	Gummiähnlicher, durchscheinender Belag, später ähnl. dem d. B. vulgatus. Überzug in H_2O löslich u. daraus d. Alkohol fällbar	Bei 37° C schleimiger, dicker feuchter Belag von gelber bis hellgelbbrauner Farbe, stark fadenziehend, nicht gefaltet
Ausflälung des Kaseins u. nachher. Auflös. desselb. Fakultativ anaërob	Gerinnung	Ausfällung des Kaseins, dann Lösung desselben Streng aërob
40—42° C	(Wächst bei Zimmer- und Bruttemperatur)	37° C
Zersetzung der Krume u. Bildung fadenziehender Substanzen	Krume v. braun-rötlichen, klebrigen u. fadenziehenden Massen m. süßlichem Geruche durchsetzt. Reaktion der Massen neutral	Die an den betreff. Stellen durchfeuchtete Krume enthält i. d. Poren weißl. glänz. Knötchen. Geruch angenehm aromatisch. Reakt. sauer. Farbe nicht verändert

Stäbchen sehen verschieden aus, wie es 13 und 14 dartun. Wir sehen hier sporulierende Formen neben Vegetationszellen. Beim Bacterium panis (13) sind die Stäbchen plump und gedrungen, die Sporen liegen meist in der Zellmitte, und bei ihrer Anlage kommt es zu keiner Auftreibung der Sporenmutterzelle. Ganz anders sehen die Vegetationsformen von Bacillus mesentericus fuscus aus. Die Stäbchen sind länger und schlanker. Bei der Sporulation, die meist einem Zellpole etwas genähert einsetzt, findet eine geringe Auftreibung des Sporangiums statt. Diese wenigen Vergleiche werden die große Verschiedenheit der Vertreter der Mesentericus- oder Kartoffelbazillusgruppe zur Genüge dargetan haben.

Die chemischen Veränderungen, die durch das Wachstum der Erreger des Fadenziehens im Brote hervorgerufen werden, sind ebenfalls verschieden. Im allgemeinen findet eine kräftige Verzuckerung und Dextrinbildung der Stärke statt, während das Fett und die Rohfaser intakt bleiben. Der Abbau der Kleberproteide kann geringfügig sein und nur in einer schwachen Hydrolyse bestehen oder sehr tief erfolgen bis zum Auftreten der einfachsten Spaltungsprodukte, wie Ammoniak. In dem Schleime und den fadenziehenden Massen konnten neben Stärke, Dextrin und Zucker auch Peptone und Albumosen nachgewiesen werden.

Nach allen vorliegenden Untersuchungen kann es wohl als sichergestellt gelten, daß die Schleimmassen selbst weder als Zersetzungsprodukte der Stärke noch des Klebers aufzufassen sind, sondern als verquollene und verschleimte Massen der Zellwand der Bakterien.

Wie schon gesagt, gelangen die Erreger des Fadenziehens schon aus dem Mehl in das Brot, wo sie sich unter günstigen äußeren Bedingungen entwickeln. Die Kornmehlsorten sind an solchen Bakterien besonders reich, während man sie im Weizenmehl mitunter vollkommen vermißt. Zu ihrer Entwicklung im Brote verlangen sie eine höhere Temperatur, die zwischen 20 und 30° C liegt, eine genügende Feuchtigkeit und neutrale oder sehr schwach alkalische Reaktion desselben. Deshalb tritt diese Brotkrankheit immer im Hochsommer zur heißesten Zeit ein und befällt die mit Hefe bereiteten größeren Brote, besonders dann, wenn sie nur aus Roggenmehl oder mit einem erheblichen Roggenmehlzusatz hergestellt worden waren. Reines Weizengebäck bleibt meist davon verschont. Abgesehen von der bei kleinen Brötchen im Inneren höheren Backtemperatur tritt das Fadenziehen bei ihnen schon deshalb nicht in Erscheinung, selbst wenn die Erreger vorhanden sind, weil die kleinen Brötchen alsbald nach der Herstellung verzehrt werden und selbst bei längerer Aufbewahrung rasch austrocknen, wodurch ebenfalls die Entwicklung dieser Bakterien verhindert wird.

Als bestes Abwehrmittel empfiehlt sich eine recht niedrige, unter 15° C liegende Aufbewahrungstemperatur. Außerdem kann ein genügender Milchsäurezusatz oder ein Ersatz der Hälfte des zur Teigbereitung notwendigen Wassers durch saure Molke dem Übel steuern.

Nach dem Genusse fadenziehenden Brotes sah man mitunter

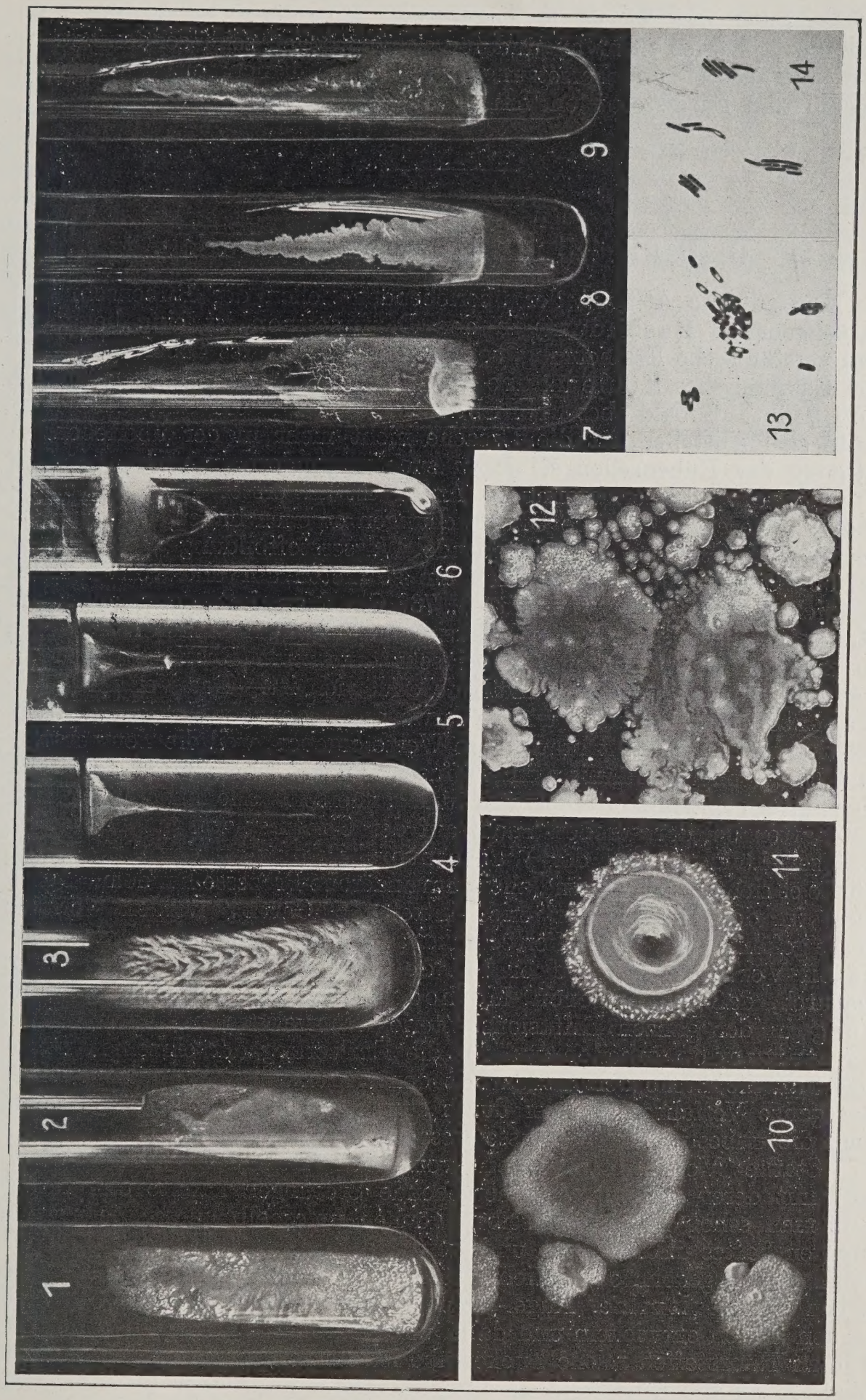


Fig. 143.

bei Menschen und Tieren Krankheiten auftreten. Es dürften wohl hier die Bakterien nicht an und für sich pathogen sein, sondern durch ihre Stoffwechsel- und Zersetzungsprodukte die manchmal beobachteten Magen- und Darmstörungen verursacht worden sein.

O. Bakterien in der Zuckerfabrikation.

Die auf die Atmung der überlebenden Zellen der Rübenschnitzel zurückgehende Gasbildung in den Diffuseuren ist eine bekannte und verständliche Erscheinung, solange die Analyse des dabei entstehenden Gasgemisches Kohlensäure neben wenig Sauerstoff und viel Stickstoff ergibt. Sobald aber brennbare Anteile in dem Gase der Diffuseure sich einstellen, ist die Ursache nicht mehr in der überlebenden Atmung der Rübenzellen selbst zu suchen, sondern in mikrobiellen Vorgängen. Dieser brennbare Anteil ist in erster Linie Wasserstoff. Wie entsprechende Untersuchungen ergeben haben, tritt die abnorme, auf Gärungen zurückgehende Wasserstoffbildung in den auf ca. 50° C erwärmten Diffuseuren am stärksten auf und verschwindet gänzlich in den Diffuseuren mit ca. 76° C. Man hat denn auch die Menge der in den Säften der Diffusionsbatterie befindlichen Mikroben zu ermitteln getrachtet und dabei sehr divergente Resultate erhalten, was durch die angewendete Methode erklärlich ist. Das Verfahren der Keimzahlbestimmung unter Verwendung der gewöhnlichen Nährgelatine kann hier nicht brauchbare Werte ergeben, weil die Temperatur- und Ernährungsverhältnisse im Diffuseur andere sind als auf der Gelatineplatte bei Zimmertemperatur und anderseits alle anaëroben Bakterienarten bei der aëroben Zucht auf der Gelatineplatte gar nicht auswachsen können. Bei der Wasserstoffbildung in den Diffuseuren dürfte es sich aber einzig und allein um anaërobe Prozesse handeln. Durch diese in der Diffusionsbatterie eintretende Gärung werden Verluste herbeigeführt, die vom Zuckertechniker als die sogenannten unbestimmbaren Verluste an Zucker bei der Diffusion bezeichnet werden. Dadurch, daß die neueren Methoden der Rübenzuckergewinnung in der ganzen Diffusionsbatterie mit weitaus höheren Temperaturgraden arbeiten und für die Entleerung der einzelnen Diffuseure an die Stelle der Handarbeit den Druckluftbetrieb setzen, leidet das ganze Verfahren weniger durch starke Mikrobenentwicklungen und engt die unbestimmten Verluste wesentlich ein.

Starke Verschleimungen von Preßsäften der Zuckerrüben und mit deren Bildungen einhergehende Störungen kannte und fürchtete man schon lange. Dieselben können innerhalb kurzer Zeit große Mengen Saftes unbrauchbar und wertlos machen und so in den Zuckerfabriken ausgedehnte Betriebsschädigungen herbeiführen. Dieselben gehen auf Spaltpilze, Kugel- und Stäbchenbakterien zurück, die sich in den Säften entwickeln und dabei ungeheure Schleimmassen erzeugen. Die an Nährstoffen reiche Zuckerrübe ist als zerquetschter Brei sowohl als in Form von Schnitzeln ein ausgezeichneter Nährboden für zahlreiche Bakterienarten.

In der Zuckerfabrikation am längsten bekannt ist der sog. „Froschlaich". Es sind dies laichähnliche, nuß- bis handgroße lappige und oberflächlich höckerige Gebilde, die aus einer sehr durchscheinenden Gallertmasse zusammengesetzt sind. Dieselbe ist entweder farblos oder durch den eingelagerten Farbstoff der Rübe bläulich bis schwarz gefärbt. Liesenberg und Zopf haben als die ersten Reinzuchten des Erregers des „Froschlaiches", des Leuconostoc mesenterioides, gewonnen. Derselbe ist eine Kugelbakterie, die nur unter bestimmten Umständen bei der Darreichung gewisser Kohlenhydrate so mächtige Gallertkapseln erzeugt. In Figur 144 ist derselbe mit und ohne Kapseln wiedergegeben. Der Durchmesser dieses Streptokokkus beträgt 0,8—1,2 μ, während die um die einzelnen Zellen oder Zellgruppen erzeugten Gallerthüllen 6—20 μ messen. In a und b dieser Figur sind die Zellen des Streptococcus mesenterioides frei von der Kapsel wiedergegeben, wie sie bei der Zucht auf dextrose- und saccharosefreien Nährböden wachsen. Sie bilden unter diesen Umständen regelmäßige Kettenverbände.

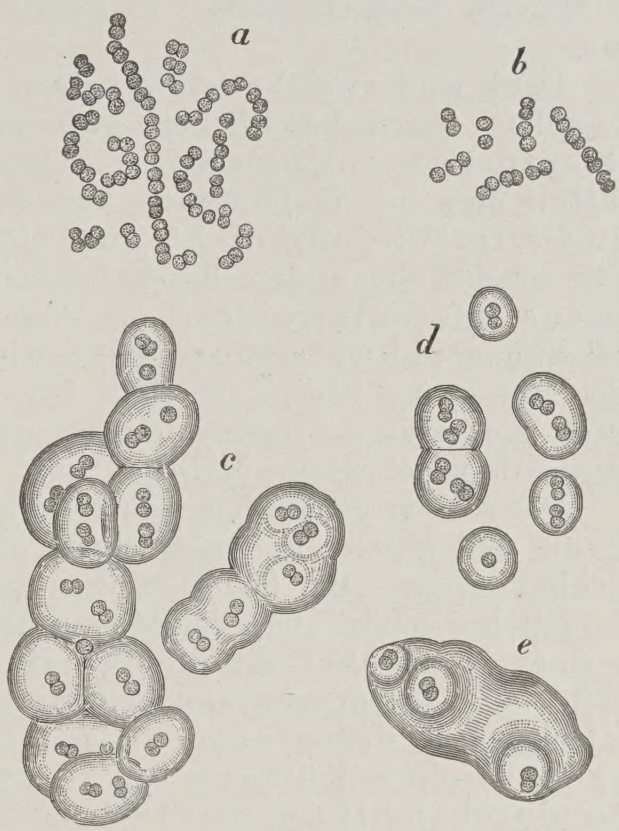


Fig. 144.

Die enormen Gallerthüllen werden nur in dextrose- und saccharosereichen Nährsubstraten ausgebildet, während dieselben bei der Zucht auf dextrose- und saccharosefreien Nährböden vollständig fehlen. Andere Zucker und Alkohole, wie Maltose und Laktose, dann Glyzerin und Mannit rufen die Schleimhüllenbildung ebensowenig hervor wie Dextrin, obwohl sie im übrigen als Kohlenstoffquellen brauchbar sind und von Streptococcus mesenterioides tatsächlich angegriffen werden. Dabei erzeugt er aus Maltose, Laktose und Dextrin geringe Mengen Milchsäure unter mäßiger Gasbildung.

Streptococcus mesenterioides hat sein Temperaturoptimum bei 35° C, sein Minimum zwischen 11 und 14° und sein Maximum bei 40—43° C. Im allgemeinen überdauert er aber eine wesentlich über dem Maximum liegende Erwärmung, was besonders für die in den Gallerthüllen eingeschlossenen Zellen gilt. Die in den Schleimkaspeln eingetrockneten Kokken können sogar bei Anwendung trockener Hitze durch mehrere Minuten auf 100° erhitzt werden, ohne daß sie zerstört werden. In feuchter Wärme werden sie in der gleichen Zeit bereits bei 88° C vernichtet.

Im Laufe der Zeit wurden aus Zuckerrübenbetrieben noch einige

Arten von schleimbildenden Kugelbakterien reingezüchtet und genauer untersucht, die dem genannten Streptococcus mesenterioides mehr oder weniger nahestehen. Sie seien kurz erwähnt.

Der schleimbildende Coccus I Schöne säuert den Rübensaft unter Gasbildung und erzeugt darin einen ausgiebigen weißen Bodensatz. Die Säuerung geht in erster Linie auf die Bildung von Essigsäure und Milchsäure zurück. Daneben entsteht noch Bernsteinsäure und etwas Schwefelwasserstoff und ein nicht näher untersuchtes Gas.

Der Coccus II Schöne ist eine dem Coccus I sehr ähnliche Kettenkugelbakterie, welche den Rübensaft dickflüssig und trüb macht. Er erzeugt darin ebenfalls Essigsäure und Milchsäure neben einem Gas.

Dann sind zwei Varietäten einer Art zu nennen, die allerdings als besondere Arten beschrieben wurden, Streptococcus Zettnow und Streptococcus Opalanitza Zettnow. Sie bilden ihre Schleimhüllen nur bei Gegenwart von Saccharose, während Dextrose die Gallertbildung nicht auszulösen vermag. Auch die Gallerthülle scheint eine andere Beschaffenheit aufzuweisen als beim Streptococcus mesenterioides, da dieselbe in einer halbkonzentrierten, jodhaltigen Schwefelsäure gelöst wird, was bei derjenigen des Froschlaichbakteriums nicht der Fall ist. Die genannten Kettenkugelbakterien Zettnows vergären Zucker unter geringer Gasbildung und erzeugen dabei ebenfalls Milchsäure.

Die soeben genannten Bakterien sind gegen höhere Temperaturen und gegen das Austrocknen viel empfindlicher als das Froschlaichbakterium. Bei 65° C sterben sie bereits nach 15 Minuten ab.

Hierher gehört auch der Myxococcus Betae Gonnermann, der in einer Rostocker Zuckerfabrik gefunden wurde. Die durch ihn gebildeten Gallertmassen hatten eine ähnliche Beschaffenheit wie diejenige des Streptococcus mesenterioides und bestanden aus sagoähnlichen Körnern von 2—5 mm Größe, die durchscheinend oder durchsichtig waren: In ihnen lagen meist kleine, scharfbegrenzte Hohlräume, die von einer dünnflüssigeren Gallerte erfüllt waren. In letzterer befanden sich die Kugelbakterien in Kettenverbänden. In künstlichen Zuchten kam es bei dieser Bakterienart nur dann zur Erzeugung größerer Gallertmassen und von Gasen, wenn im Nährsubstrat Saccharose zugegen war, während Dextrose diese Erscheinungen nur in geringem Grade hervorbringt.

Die bisher bei der Rübenzuckerfabrikation beschriebenen Gallert- und Schleimbildungen gehen auf Kugelbakterien zurück. Wir finden aber auch solche, die durch Stäbchenbakterien hervorgerufen werden. Es sind dies meist sporenbildende Arten, die in der Erde ihren natürlichen Standort haben, aus ihr auch gewonnen werden können und mit den Zuckerrüben aus derselben in die Säfte gelangen. Da sie sich durch große Resistenz ihrer Sporen auszeichnen, die selbst vielstündiges Kochen ertragen und Behandlungen mit mehrprozentiger Salzsäure oder Ätzkalkaufschwemmung selbst bei höherer Temperatur aushalten, so steht es außer Zweifel, daß sie auch die Einwirkungen bei der Behandlung des Zuckersaftes bei der Scheidung und Saturation zu über-

leben vermögen. Im allgemeinen handelt es sich auch hier um Bakterienarten, deren physiologische Eigenschaften sehr variabel und vielseitig sind, die aber fast immer neben Gasgemengen Milchsäure und Essigsäure in wechselndem Mengenverhältnisse erzeugen und daneben auch andere Säuren in sehr geringer Menge produzieren, meist fakultativ anaërob sind und bei der Anwesenheit von Saccharose Schleim- oder Gallertbildungen im Nährsubstrat hervorrufen. Letztere Eigenschaft ist aber keineswegs als konstant zu betrachten, da sie bei künstlicher Zucht nicht lange erhalten bleibt und auch durch andere, mitunter noch sehr wenig gekannte äußere Bedingungen Änderungen erfährt. Diese Erscheinungen bringen die hier in Rede stehenden Bakterienarten, sofern es sich überhaupt um echte Arten handelt, zahlreichen Milchsäurebakterien sehr nahe. Sie führen entweder zu einer Verschleimung der Kulturen durch Überführung von Kohlehydraten in Schleim oder erzeugen auch kolossale Gallerthüllen, die auf umgewandelte oder erweichte Membranteile zurückgehen. Außerdem säuern sie meist die Zuckersäfte durch die Bildung der oben genannten Säuren. Dabei vergären sie die Saccharose. Diese Gärungen sind keineswegs einheitlicher Natur. Es handelt sich dabei offenbar um mehrere hintereinander und nebeneinander verlaufende Einzelgärungen, von denen entsprechend den herrschenden Bedingungen die eine oder andere besonders in den Vordergrund tritt. Wahrscheinlich spielen sich neben echten Schleimgärungen auch die Wasserstoffgärung, Milchsäuregärung und anaërobe Essigsäuregärung, unter besonderen Bedingungen auch die Alkoholgärung ab.

Von schleimbildenden Stäbchenbakterienarten sind vor allem die Vertreter der Gattung Semiclostridium zu erwähnen, die nach Maassen durch vier Arten repräsentiert wird. Sie sind durch ihre Sporenbildung gekennzeichnet, bei der eine Formveränderung der Stäbchen in der Weise stattfindet, daß das Sporangium eine birnenförmige Gestalt aufweist. Die Spore selbst wird aber nicht in dem erweiterten Teile gebildet, sondern liegt im schmalen Abschnitte. Die Gestalt der Sporen ist ellipsoidisch. Die Spore mißt im Mittel 1,75 μ in der Länge und 0,8 μ in der Breite. Die Sporenbildung unter Entstehen der genannten Formveränderung findet aber nur bei vermindertem Sauerstoffdruck statt und unterbleibt unter anaëroben Bedingungen vollends. Bei vollem Luftzutritt fehlt auch jede Formänderung. Die Keimung der Sporen erfolgt schräg zur Längsachse derselben in der Nähe eines Poles.

Die vegetativen Stäbchen sind lang und schmal und peritrich begeißelt. Duch höhere Temperaturen, die noch unter dem Maximum liegen, wird die Bildung langer, unbeweglicher Fäden ausgelöst.

Die Kardinalpunkte der Temperatur für das Wachstum liegen zwischen 18 und 55° C, das Optimum um 45°.

Von den vier Arten sei das Semiclostridium commune Maassen näher behandelt. Es gedeiht sowohl auf sauren als auf alkalischen Nährsubstraten und kann die meisten komplizierten und einfachen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen ausnützen. Beim Vorhandensein von Saccharose in den Nährlösungen kommt es besonders zur Ausbildung größerer Gallertmassen, wie eine solche nach Maassen in Figur 145 in natürlicher Größe abgebildet ist. Gegenüber den Zoogloeën des

Froschlaichbakteriums besteht insofern ein Unterschied der Schleimmassen dieser Art, als hier kein innigerer Zusammenhang zwischen diesen und den Zellen selbst vorkommt. Außerdem ergibt die Gallerte des Semiclostridiums commune bei der Hydrolyse Lävulose und steht insofern in ihrer chemischen Zusammensetzung dem Lävulan Lippmanns nahe. Bei der Zersetzung der Saccharose durch diese Bakterien entsteht unter Gasbildung in geringer Menge Alkohol, Rechtsmilchsäure, Ameisensäure und Essigsäure.

Eine andere sporenbildende Bakterienart, die aus einer bei der Rübenzuckerfabrikation spontan aufgetretenen Verschleimung stammt, wurde von Poupé beschrieben. Es fand sich dieselbe im Dicksaft von 56° C und bildete darin einzelne Schleimflocken, die später zu einer dicken Haut anwuchsen. Bei Temperatnren des Dicksaftes von 70—75° C sistierte die Entwicklung, um später nach dem Herabgehen der Temperatur von neuem einzusetzen. Die Verschleimung ist hier auf eine Schleimgärung, also die Bildung schleimiger Spaltungsprodukte, zurückzuführen.

Fig. 145.

Clostridium gelatinosum Laxa ist eine schleimbildende, sporenerzeugende Art, welche aus dem Schaume einer in Schaumgärung befindlichen Füllmasse isoliert worden war. Sie erzeugt auch wahrscheinlich Milchsäure und ist zur Einleitung mehrerer Gärungen anscheinend befähigt, denn sie lieferte beim Wachstum in zuckerhältiger, mineralischer Nährlösung etwas Alkohol und Milchsäure neben Spuren anderer flüchtiger Säuren unter Kohlensäureentbindung. Aus dem Schleim dieser Art konnte durch Hydrolyse Fruktose erhalten werden.

Neben diesen bekannteren Sporenbildnern tritt als Schleimbildner bei der Rübenzuckerfabrikation auch eine Reihe nicht Sporen erzeugender Stäbchenbakterien auf. Hier ist zu nennen das Bacterium pediculatum Koch und Hosaeus, das sich in einem Sirup für zweites Produkt ansiedelte. Näheres über die Art ist nicht bekannt, da sie nicht rein gezüchtet werden konnte. Auffallend an ihr ist die einseitige Ausbildung der Gallertmassen, so daß die Bakterien wie auf Stielen sitzend aussehen.

Eine andere nicht sporulierende Schleimbildnerart ist der Bacillus viscosus sacchari Kramer, der den Zuckerrübensaft schon bei gewöhnlicher Zimmertemperatur total verschleimt. Hier handelt es sich um eine schleimige Mannitgärung. Bei derselben entstehen aus der Saccharose neben dem schleimigen, gummiartigen Stoff Mannit, Kohlendioxyd und Wasser. Der Vorgang verläuft wahrscheinlich nach der Gleichung:

$$25\ C_6H_{12}O_6 = \underset{\text{Gummi}}{12\ C_6H_{10}O_5} + \underset{\text{Mannit}}{12\ C_6H_{14}O_6} + 6\ CO_2 + 6\ H_2O$$

Das Bacterium gelatinosum betae Glaser erzeugt auf Rübensaft unter schwacher Gasbildung innerhalb kurzer Zeit eine Decke von klumpigen Gallertmassen, wenn Temperaturen von 40—45° C

herrschen. Diese Stäbchenbakterienart bildet anscheinend keine Sporen. Sie ist lebhaft beweglich. Die von ihr erzeugte Gallerte steht dem Dextran Scheiblers sehr nahe.

Schöne beschrieb eine ebenfalls nicht sporenbildende Kurzstäbchenbakterienart, die er auf frischen Rübenschnitzeln und auch in einem Diffusionssaft fand. Sie bewirkt eine kräftige Säuerung und Trübung und spätere Bodensatzbildung. Bei den durch sie hervorgebrachten Zersetzungen entstehen unter Gasbildung Links-Milchsäure, Essigsäure und geringe Mengen von Alkohol.

Der Bakteriengehalt der Säfte der Rübenzuckerfabrikation ist trotz der Einführung neuer Diffusionsmethoden, die die Anwendung großer Hitze verlangen, dennoch in allen Stadien der Herstellung ein verhältnismäßig großer, da im Laufe der Gewinnung des konzentrierten, reinen Saftes aus dem trüben Rohsaft zahlreiche Infektionsmöglichkeiten vorliegen, wenn auch von den Rübenschnitzeln her nicht allzu viele Bakterien mitgenommen werden. Es sei kurz an den Hergang des modernen Rübenzuckergewinnungsbetriebes erinnert. Der nach dem Brühverfahren gewonnene Rohsaft aus den Rübenschnitzeln wird mit Druckluft in heißem Zustande (75—78° C) aus der Diffusionsbatterie in das Meßgefäß getrieben, wobei er den zwischengelegten Pülpenfänger passiert. Wird letzterer nicht genügend heiß gehalten, so kann von hier aus eine ausgiebige Infektion mit Schleimbildnern erfolgen. Aus dem Meßgefäße kommt der Saft über den Vorwärmer in die Scheidepfanne, wo eine Neutralisierung desselben und Abscheidung der Nichtzuckerstoffe durch Zusatz von Ätzkalk und Erhitzung auf 90° C erreicht wird. Jetzt wird der Saft saturiert. Bei der Saturation wird Kohlensäure und ein wenig schweflige Säure eingeblasen und bis zum Kochen erhitzt. Die Scheidung und Saturation werden demnach nur die allerwiderstandsfähigsten Sporen gewisser Bakterienarten, wie beispielsweise der vorgenannten Semiclostridien, ertragen und überleben. Solche wurden tatsächlich auch danach gefunden. Aus dem Saturator kommt der Saft in die Schlammpresse, wo ebenfalls eine starke Vermehrung der noch vorhandenen Sporen und neu hinzugetretenen Bakterien dann erfolgen kann, wenn die Filter schlecht funktionieren und der Inhalt zu langsam durchgeht, weil dann die Temperatur meist unter 60° absinkt. Trotz mehrmaliger Saturation und Filtrierung ist der ablaufende Saft dennoch nicht keimfrei, denn die Sporen der hier vorkommenden Bakterienarten, deren Hauptmenge aus Vertretern der Subtilis- und Mesenterikus-Gruppe besteht, überdauern samt und sonders die bei der Saturation herrschenden hohen Temperaturen. Gewöhnlich wiederholt man die Saturation dreimal, worauf der ablaufende Dünnsaft noch einer besonderen Filtration in Kies- oder Beutelfiltern unterworfen wird, wobei wieder reichliche Gelegenheit zu neuen Infektionen von außen her besteht. Der Dünnsaft kommt nun in die Verdampfungskörper, von denen der erste die höchste, meist 100° ein wenig überschreitende Temperatur aufweist, während der dritte und letzte nur auf etwa 70—75° erwärmt wird. Die Sporen der Semiclostridien und auch der zuvor genannten Bakteriengruppen werden zum großen Teil auch diese Hitzeeinflüsse überdauern. Der in den Verdampfkörpern entstandene Dicksaft geht nunmehr durch die heiß

gehaltenen Dicksaftfilter, wo ebenfalls eine Zunahme der Bakterien eintreten kann, von denen aber sehr viele im Filter zurückgehalten werden, so daß der klare Dicksaft doch als verhältnismäßig keimarm bezeichnet werden darf. Immerhin finden sich darin meist wieder diejenigen Arten, bzw. deren Sporen, welche Verschleimungen und Säuerungen des Saftes hervorzubringen vermögen. Das nun folgende Verkochen des klaren, glänzenden Dicksaftes erfolgt im Vakuumkörper zur sogenannten Füllmasse. Wegen des hier herrschenden, verminderten Druckes braucht man zum weiteren Eindicken des Saftes keine hohen Temperaturen anzuwenden, weshalb dieselben hier wohl immer viel unter 100° liegen. Eine Entkeimung und Befreiung des Saftes von lebenden Sporen findet also auch im Vakuumkörper nicht statt, weshalb die frisch bereitete Füllmasse auch jederzeit zahlreiche Bakterien und deren Sporen enthält. Die etwa 90% Zucker enthaltende Füllmasse wird auf 45—50° abgekühlt und geschleudert, wobei sich der Rohzucker von etwa 95% Saccharosegehalt von dem Sirup scheidet. Letzterer wird neuerlich verkocht und in ein zuckerhältigeres Nachprodukt und Melasse durch Kristallisation bei 40° geschieden. Mit der Melasse verfährt man weiter in derselben Weise, indem man das Verkochen und Trennen durch Kristallisation einige Male wiederholt, bis schließlich ein an Salzen und Milchzucker reicher Rest übrigbleibt, der durch verschiedene Methoden auf Zucker noch weiter verarbeitet wird.

An den Füllmassen und auch an den Melassen beobachtet man nun häufig lebhafte Gasbildung und Aufgehen von Schaum an der Oberfläche derselben. Die Gasblasen enthalten dabei vornehmlich Stickoxyd, das auf eine Zersetzung des in den Massen vorhandenen Salpeters zurückgeht, weshalb man diese Art von Schaumgärung als **Salpetergärung** bezeichnet. Im wesentlichen handelt es sich dabei um eine durch Bakterien hervorgerufene indirekte Denitrifikation, die wir bereits kennen gelernt haben (vgl. S. 297). Dabei ist aber nicht zu vergessen, daß dieselben Erscheinungen der Entbindung von Stickoxyd ihre Ursache auch in rein chemischen Vorgängen haben können, was gewiß auch in vielen Fällen zutreffen wird.

Die durch Schaumbildungen in der Füllmasse, in den Sirupen und auch Melassen sich verratende Schaumgärung kann auch noch auf andere mikrobielle Zersetzungen zurückgehen, die Lafar mit Recht als **Amidgärung** bezeichnet hat. Die Füllmassen und in weitaus größerem Maße die Melassen und Sirupe sind reich an verschiedenen Aminosäuren, die entweder, wie Asparaginsäure und andere, schon vom Rübensaft stammen oder bei der Saturation, beim Verdampfen und Verkochen aus den vorhandenen Proteinen durch die Einwirkung des Kalkes, der schwefligen Säure und Kohlensäure bei den in Anwendung kommenden hohen Temperaturen entstehen. Zahlreiche Amide ergeben bei ihrer Zersetzung reichliche Kohlendioxydmengen, die eben auch bei dieser Art von Schaumgärung beobachtet wurden. Bei letzterer wird aber sicherlich auch eine Reihe anderer organischer Nichtzuckerstoffe vergoren, wie organische Säuren und die zahlreichen anderen stickstoffhaltigen organischen Verbindungen, die in großer Zahl im Rübensaft nachgewiesen worden sind. Die in den Füllmassen herrschende relativ hohe Temperatur ist nun kein Hindernis, auch in diesen Vorgängen bak-

terielle Zersetzungen zu erblicken, da man ja auch aus in Schaumgärung geratenen Füllmassen einerseits thermophile und thermogene Bakterien gezüchtet hat und andererseits durch entsprechende Desinfektionsmittel, wie Formaldehyd, diese Gärungen auch unterdrücken konnte, was gewiß für die mikrobielle Natur derselben spricht. Von einigen Seiten wurde allerdings der rein chemischen Natur dieser unter Kohlendioxydbildung ablaufenden Zersetzungen, die nicht den Zucker betreffen, das Wort geredet. Gegen diese Auffassung spricht auch der Umstand, daß die in der Tiefe auftretenden und die Füllmasse emporhebenden Gasmengen zu Beginn der Amidgärung gering sind, dann zunehmen und sich auf einer beträchtlichen Höhe halten, obgleich zuerst eine mitunter recht beträchtliche Temperatursteigerung zu beobachten ist, der dann ein spontaner Temperaturabfall folgt. Die Gasbildung hört meist erst dann auf, wenn in den Füllmassen die Temperatur unter 45° C gesunken ist. Wie schon oben angedeutet, scheint es sich bei dieser Gärung um thermophile und thermogene Bakterienarten zu handeln, auf die nicht nur die Zersetzungen, sondern auch die Temperatursteigerung zurückgehen. Es ist auch sehr wahrscheinlich, daß sich bei diesen als besondere Schaumgärung bekannten Umsetzungen eine Fülle von Vorgängen abspielt, in die wir im einzelnen noch gar keinen Einblick haben und für die sicherlich eine Reihe hintereinander und nebeneinander tätiger Bakterienarten verantwortlich gemacht werden muß. Außerdem werden sich gewiß auch rein chemische Vorgänge abspielen können, bei denen aber nur verhältnismäßig geringe Gasmengen entstehen dürften, wie wir sie bei der Bildung der spontan auftretenden schaumigen Decke auf Füllmassen beobachten können.

Sowohl bei der Lagerung des Rohzuckers als auch in der Raffinade desselben treten nicht allzu selten Zersetzungen desselben auf, die das Produkt minderwertig machen und hauptsächlich zur Bildung von größeren und geringeren Mengen von Invertzucker führen. Bekanntlich wird der Rohzucker unmittelbar nach der Gewinnung im sogenannten Zuckerboden gelagert, wo er sich in großen Haufen zusammengeschichtet befindet. In diesen Haufen kann nun eine nicht unbeträchtliche Selbstzersetzung oder eine spontane Durchfeuchtung eintreten. Die Bildung des Invertzuckers geht wohl meist auf Bakterienvegetationen zurück. In den Rohzuckerhaufen finden sich Bakterien in nicht unerheblichen Mengen und viele Arten derselben vermögen kräftig Invertase zu bilden, die dann die Inversion der Saccharose herbeiführt. Außerdem können sich auch hier bei genügender Feuchtigkeit andere Gärungen einstellen, die durch ihre Spaltungsprodukte zu einem Umschlagen der Reaktion führen.

Auch die Raffinade ist durch Bakterien noch sehr gefährdet. Das Feuchtwerden derselben geht sicherlich auf diese Organismen zurück. Dabei tritt ebenfalls eine kräftige Inversion der Saccharose auf. Das Feuchtwerden der Raffinade zeigt sich in der Weise, daß die zuvor in den Trockenstuben vollkommen trocken gewordene Raffinade an der freien Luft Wasser anzieht und einen immer größer werdenden Feuchtigkeitsgrad aufweist, wobei sie in der Folge eine bröcklige Beschaffenheit annimmt und schließlich vollständig zerfällt. Diese Massen enthalten dann reichlich Invertzucker. Diese Invertzuckerbildung kann auch in den Raffineriemelassen auftreten.

Eine gewiß andere Bakterienflora werden wir in den aus dem **Zuckerrohr** gewonnenen Säften zu gewärtigen haben. Abgesehen davon, daß hier eine ganz andere Technik der Herstellung geübt wird, ist auch das Ausgangsmaterial anders. Von der Zuckerrohrpflanze wird nur der oberirdische Teil zur Zuckergewinnung benützt. Die tiefgehenden erdigen Verunreinigungen sind hier im Verhältnis zu jenen, die an der Zuckerrübe vorliegen, gewiß als sehr gering zu bezeichnen, wenn sich auch zahlreiche pilzliche Schädlinge an demselben festsetzen und mitunter Erkrankungen der Zuckerrohrpflanze herbeiführen, die von den Plantagenbesitzern mit Recht gefürchtet sind. Sie sind für unsere Darstellung so lange nebensächlich, als sie die stehende Pflanze befallen und zugrunde richten, ohne daß sie auch dem aus gesundem Zuckerrohr erzeugten Safte gefährlich werden. Eine solche Gefährdung durch die Pflanzenschädlinge ist aber noch für keinen Fall sicher nachgewiesen, wie überhaupt die Mykologie des Rohrzuckersaftes noch wenig und teilweise gar nicht erforscht ist. Wir kennen auch die Bakterienflora der Oberfläche des Zuckerrohres noch nicht. Darüber stehen eingehende Untersuchungen noch aus. Wenn auch wahrscheinlich die Bakterienzahl auf dem Zuckerrohre bei der Ernte verhältnismäßig gering sein wird, so bietet doch dafür die weitere Verarbeitung und der Saftherstellungsbetrieb reichliche Gelegenheit zu ausgiebigen Infektionen, da vor allem keine höheren Temperaturen zur Anwendung kommen.

Bei der Gewinnung des Zuckersaftes werden die Stengel meist in besonderen Rohrmühlen bei gewöhnlicher Temperatur ausgequetscht. Der saure Zellsaft wird dann mit einer verhältnismäßig geringen Menge Kalkmilch zur Scheidung versetzt, denn der Zusatz ist so bemessen, daß in dem Rohsaft nur eine schwach alkalische Reaktion entsteht. Bezüglich des Bakteriengehaltes wissen wir nur, daß nicht nur der Rohsaft vor dem Kalkzusatz sehr keimreich ist, sondern auch der Dünnsaft nach der Scheidung, der Dicksaft und die Füllmasse gewiß nicht als keimfrei zu bezeichnen sind.

Man hat nun in einigen Fällen der Zuckerrohrverarbeitung ebenfalls Schleimbildner nachgewiesen, die hier kurz gekennzeichnet seien.

In einer javanischen Zuckerfabrik beobachtete man das Auftreten von massenhaften Zoogloeënmassen in den Saftgefäßen, Rohrleitungen und Pumpen, die sich auch in allerdings weit geringerer Menge schon in den Rohrmühlen zeigten. In einem Falle soll ein halber Kubikmeter Schleimmasse innerhalb weniger Stunden entstanden sein. Nach Winter war der Erreger dieser kolossalen Verschleimungen eine dem Streptococcus mesenterioides sehr nahestehende Kugelbakterienart, die wohl als Varietät unserer einheimischen Art aufzufassen ist und nur ein höheres bei 37° C liegendes Temperaturoptimum für das Wachstum aufweist. Übrigens dürfte das Froschlaichbakterium wohl auch in den Rohrzuckersäften am häufigsten die gefürchteten Verschleimumgen und Gallertbildungen verursachen, denn auch in Lousiana in Nordamerika beobachtete man häufig das Auftreten dieser Art bei den Gallertbildungen der Rohsäfte in den Zuckerfabriken.

Außer den genannten Streptokokkeninfektionen können in den Rohrzuckersäften auch gewiß Vertreter der Gruppe Bacillus mesen-

tericus zu ausgiebigeren Verschleimungen Veranlassung geben, wie aus einem von *Smith* beobachteten Fall zu entnehmen ist. Dabei handelte es sich um eine Stäbchenbakterienart, den Bacillus levaniformans Smith, der aus einem verschleimten Rohrsaft stammt. Er wächst in Form gut beweglicher, aërober, sporenbildender Stäbchen verschiedener Abmessung, invertiert kräftig Saccharose und verflüssigt Gelatine. Die Schleimbildung zeigt sich nur bei der Gegenwart von Saccharose im Nährsubstrat und wird durch gleichzeitig vorhandenes Pepton wesentlich gefördert, während bei der Darreichung von Dextrose, Lävulose, Maltose, Laktose und Stärke als besondere Kohlenstoffquelle kein Schleim erzeugt wird. Der das polarisierte Licht links drehende Schleim scheint durch Zerfließen der von der Zellwand stammenden Gallertkapseln zu entstehen. Bei der Hydrolyse liefert er Lävulose, weshalb seine Substanz als Levan bezeichnet wurde. Außer dieser Schleimbildung bewirkt diese Bakterienart noch eine Reihe anderer Zersetzungen, wie aus dem Auftreten von Milchsäure, Buttersäure, Ameisensäure und Kaprinsäure neben Kohlendioxyd als Gärprodukte geschlossen werden muß.

Der aus dem Zuckerrohr gewonnene Rohrzucker kann ähnliche Veränderungen erleiden, wie wir sie für den Rübenzucker kennen gelernt haben. Auch hier sinkt mitunter der Saccharosegehalt und es entsteht Invertzucker. Wahrscheinlich sind dabei Mikroorganismen im Spiele, da der Prozeß durch Feuchtigkeit und Wärme sehr gefördert wird und durch Anwendung von Desinfektionsmitteln eingeschränkt und unterdrückt werden kann. In vielen Fällen werden hier sicher auch Schimmelpilze und Hefen am Zerstörungswerk tätig sein, wie einige Untersuchungen ergeben haben.

P. Senfgärung und Senfzersetzung.

Bei der Bereitung des Senfes im allgemeinen wird meist von gequetschten, mitunter auch von gemahlenen Sanfsamen ausgegangen. Die Mikrobenflora des Senfsamens ist ähnlich derjenigen des Getreidekornes und Mehles. Der Gehalt an Bakterien kann jedenfalls als groß bezeichnet werden. Im allgemeinen ist der Keimgehalt der schwarzen Senfsamen weitaus größer als derjenige der weißen Samen. Kossowicz gibt dafür folgende Zahlen an:

Keimgehalt des gequetschten	schwarzen	Senfsamens	40000 pro 1 g
„ „ „	weißen	„	4800 „ 1 g

Für die Mykologie des fertigen Senfes ist aber nicht nur der Gehalt der gequetschten Senfsamen an Mikroorganismen von Bedeutung, sondern auch derjenige der Zutaten, wie der Gewürze und des Essigs.

Der Vorgang der Herstellung des meistgebräuchlichen französischen Senfes gestaltet sich etwa folgendermaßen: Ein Gemenge von gequetschten oder seltener gemahlenen schwarzen und weißen Senfsamen wird mit 2—5proz. Essig, der meist aromatisiert ist, in Fässern unter Zugabe von Kochsalz und verschiedenen Gewürzen durch einige Tage eingeweicht. Während dieses Weichungsprozesses tritt eine Fermentation

ein, die zu einer reichlichen Bildung von Senföl führt. Dieselbe geht auf die im Senfsamen bereits vorhandenen Enzyme zurück.

Die Muttersubstanzen des Senföles sind Glykoside, beim schwarzen Senf das Sinigrin, beim weißen Senf das Sinalbin. Unter Mitwirkung des Enzymes Myrosin, welches dem Samen selbst entstammt, findet der Abbau statt. Die Vorgänge desselben scheinen nach folgenden Formeln zu verlaufen:

$$\underset{\substack{\text{Myrosinsaures Kali}\\ = \text{Sinigrin}}}{C_6H_{16}NS_2KO_3} + H_2O = \underset{\text{Glukose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Allylsenföl}}{C_3H_5CNS} + \underset{\text{Kalumbisulfat}}{KHSO_4}$$

Die Zerlegung ist also eine hydrolytische Spaltung, wobei neben Glukose und Kaliumbisulfat Allylsenföl entsteht.

$$\underset{\text{Sinalbin}}{C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15}} + H_2O = \underset{\text{Glukose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\substack{\text{Sinalbin-}\\ \text{senföl}}}{C_7H_7O\,.\,CN_5} + \underset{\text{Sinapinbisulfat}}{C_{16}H_{24}NO_5HSO_4}$$

Auch die Spaltung des Sinalbins ist hydrolytischer Natur. Dabei entstehen Glukose, Sinapinbisulfat und Sinalbinsenföl. Wie schon angedeutet, finden diese Fermentationen vollkommen unabhängig von jeder Bakterientätigkeit statt. Es fehlt auch jede Wärmebildung. Bereits in diesem fermentierten Senf ist infolge der Bildung des Senföles eine Abnahme der Bakterienzahl zu verzeichnen. Es darf aber die bakterizide Wirkung des entstehenden Senföles durchaus nicht überschätzt werden, da durch dieselbe wohl selbst in großer Verdünnung eine Wachstumshemmung der Mikroorganismen, nicht aber innerhalb kürzerer Zeit eine Abtötung derselben herbeigeführt wird.

Die fermentierte Senfmaische wird nun einmal grob und dann ein- bis zweimal fein gemahlen. Sobald die Mühlen länger in Betrieb sind, steigt beim Mahlprozeß die Temperatur des gemahlenen Senfes beim Verlassen der Mühle bis ungefähr 60° und noch darüber hinaus. In diesem Fabrikationsstadium nimmt die Keimzahl rapid ab, denn einerseits wirkt die hohe Temperatur keimtötend, und anderseits ist bei dieser erhöhten Temperatur auch die Desinfektionskraft des Senföles und der vorhandenen Essigsäure weit stärker. Deshalb beobachtet man auch häufig eine vollständige Sterilisation des Senfes in diesem Stadium. Es bleiben nur noch die Sporen gewisser Arten, wie des Bacillus subtilis und Bacillus mesentericus, erhalten, die sich später unter günstigen Bedingungen entwickeln und den Senf zerstören können.

Der fermentierte und fein gemahlene Senf wird nun in offenen Gefäßen durch 2—3 Tage abgekühlt und dann endgültig in Fäßchen oder Tiegel und Gläser gefüllt, die möglichst luftdicht verschlossen sind.

Beim Lagern des fertigen Senfes in der Fabrik können aber auch schon Schädigungen desselben durch bakterielle Zersetzung eintreten, die besonders durch die Abnahme des Senföles und des Essigsäuregehaltes bei der Aufbewahrung und durch die Einwirkung hoher Lagerungstemperaturen begünstigt werden. Es bekommt dabei der im Lagerfaß oder in den Tiegeln befindliche Senf Querrisse, die von Gasblasen durchsetzt sind. Dabei zeigt dieser Senf einen unangenehmen tranig-ranzigen Geschmack und Geruch. Auch findet eine Entmischung der festen und flüssigen Bestandteile statt.

Kossowicz isolierte aus solchen Senfproben zwei Bakterienarten, den Bacillus sinapivorax und Bacillus sinapivagus, die ganz besonders für diese Veränderungen verantwortlich sind.

Bacillus sinapivorax ist eine bewegliche Stäbchenbakterienart, die bei der Zucht auf Kartoffelscheiben blasig aufgetriebene, kleine milchweiße Kolonien bildet, die sich später zu einem welligen Belag vereinigen und braun werden. Bacillus sinapivorax erzeugt auf der Kartoffel alsbald kleine, mittelständige und ovale Sporen. Er wächst auf allen gebräuchlichen Nährsubstraten und begnügt sich auch mit sehr einfachen Stickstoffquellen (Ammonsalze), sofern Dextrose oder Galaktose vorhanden ist. Diese Zuckerarten werden kräftig vergoren, während Lävulose, Saccharose und Raffinose nicht angegriffen werden. Für die im fertigen Senf auftretende Gasbildung ist jedenfalls diese Bakterienart maßgebend.

Bacillus sinapivagus steht den Kartoffelbazillen, insonderheit der Gruppe Bacillus mesentericus, nahe und bildet sehr widerstandsfähige Sporen. Auf Kartoffelstreifen in Proberöhren gezogen erzeugt er graubraune, dicke und faltenreiche Beläge. Auch in Nährbouillon gezüchtet, bildet er einen braunen Farbstoff. Kulturen dieser Art auf Nähragar zeigen einen starken Geruch nach Trimethylamin. Bacillus sinapivagus verfärbt Senf und gibt ihm einen schlechten Geruch und Geschmack. Eine Gasbildung wurde jedoch dabei nicht beobachtet.

Neben den soeben beschriebenen Senfzerstörern konnte Kossowicz in zersetztem Senf andere Vertreter aus der Gruppe Mesenterikusbazillen, wie Bacillus mesentericus vulgatus, Bacillus mesentericus fuscus, Bacillus mesentericus niger, Bacillus mesentericus ruber und auch Bacillus subtilis nachweisen. Bei allen diesen Bakterienarten handelt es sich um Sporenbildner, deren Sporen sehr widerstandsfähig sind und daher im Fabrikationsprozeß mit Sicherheit nicht ausgeschieden werden können. Einen fäkalienähnlichen Geruch unter starker Zersetzung des Senfes ruft Bacterium vulgare hervor, das Kossowicz aus verdorbenen Senfproben isolierte. Berterelli und Marchelli erhielten aus verdorbenem Senf eine dem Proteus Zenkeri äußerst nahestehende, wenn mit ihm nicht identische Bakterienart, die neben einer tiefgehenden Zersetzung auch Giftstoffe erzeugt, welche Anlaß zur Erkrankung nach dem Genuß solchen Senfes gegeben haben. Hin und wieder findet man im Senf auch neben den genannten mehr oder minder den Senf zerstörenden Arten auch Essigbakterien, die meist in die Gruppe des Bacterium xylinum gehören. Sie sind harmlos.

Neben den genannten Bakterienarten wurden in verändertem Senf auch Mycodermen und Schimmelpilze beobachtet, durch deren Wachstum ebenfalls eine Schädigung des Produktes herbeigeführt wird.

Q. Farbstoffgärungen.

Die sogenannten Farbstoffgärungen, mit deren Hilfe eine Reihe von pflanzlichen Farbstoffen gewonnen wird, besitzen auch heute noch eine gewisse Bedeutung. Die Muttersubstanzen, an denen diese Gärungen angreifen, sind meist in den betreffenden Pflanzen entstandene

Glykoside, die bei der Farbstoffbildung außerhalb der Pflanze einer enzymatischen Spaltung anheimfallen. In erster Linie ist hier die Indigogärung zu nennen.

Den Indigo gewinnt man bekanntlich aus den Blättern der Indigopflanzen, Indigofera-Arten, die denselben aber keineswegs in fertig gebildeter Form enthalten. Sie führen nur das Glykosid Indikan, das aus denselben extrahiert wird. In Java bringt man zu diesem Ende die vor der Blüte geschnittenen Pflanzen in den Extraktionsbehälter, in dem dieselben vollständig mit Wasser bedeckt werden. Aus den rasch absterbenden Pflanzen tritt dann das Indikan aus und färbt die Flüssigkeit gelb, die dann eine alkalische Reaktion aufweist und einen blauvioletten Schaum an der Oberfläche trägt. Bei der Extraktion tritt die Indigogärung auf. Dabei wird nach den neuen Untersuchungen das Indikan in Zucker und Indoxyl durch besondere Enzyme gespalten. Dieselben entstehen ebenfalls in der Pflanze und gehen bei der Auslaugung derselben mit in Lösung. Es sind die Indoxylasen Beijerincks, die bei den einzelnen Indigopflanzen verschiedener Natur sein sollen. Nach ungefähr 8—10 Stunden kommt die Extraktionsflüssigkeit in einen anderen Behälter, wo die Oxydation des Indoxyls zu Indigotin, dem Indigoblau, vollzogen wird. Um dabei die Flüssigkeit fortwährend mit genügendem Sauerstoff zu versehen, wird dieselbe in den Oxydationsbassins durch Schaufelräder und Schlagen in ständiger Bewegung erhalten. Das unlösliche Indigoblau wird nunmehr gesammelt, gereinigt, in Würfelform gepreßt und so getrocknet. Bei der Oxydation des Indoxyls zu Indigoblau dürften trotz gegenteiliger Behauptungen Oxydasen kaum eine nennenswerte Rolle spielen.

Zahlreichen Bakterienarten, die sich in den Extraktionsbehältern ständig ansiedeln, wurde früher eine Hauptbeteiligung an der Indigogärung zuerkannt, da sie tatsächlich Glykoside spaltende Enzyme enthalten und auch imstande sind, die Indikanspaltung herbeizuführen. Die neuen Untersuchungen haben aber ergeben, daß sie besonders bei der Indigogärung wohl mehr als zufällige Begleitorganismen auftreten, ohne für den Gang des Betriebes wesentlich zu sein. Dies erhellt schon daraus, daß man jetzt vielfach bei der Extraktion zur rascheren Tötung der Pflanzen auf 50° erwärmtes Wasser verwendet, wodurch die früher als notwendig angesehenen Bakterienarten ausgeschaltet werden. Übrigens pflegt man bei der Indigogewinnung höchst reinlich zu verfahren und greift dabei zu ausgiebiger Verwendung von Desinfektionsmitteln, wie Karbolsäure, mit denen man nach jedem Gebrauch die Behälter und Geräte behandelt, um Bakteriengärungen nach Möglichkeit fernzuhalten. Dieselben scheinen hier vielmehr als mitunter sehr schädliche Nebenvorgänge aufzutreten, die des öfteren eine Reihe von anders gearteten Zersetzungen herbeiführen, die die Indigobildung stören oder vereiteln.

Außer den Indigo liefernden Leguminosen kommen für die Gewinnung dieses blauen Farbstoffes noch andere Pflanzen in Betracht, wie z. B. vornehmlich der Waid, Isatis tinctoria, der zu den Cruciferen gehört. Heute spielt die Waidgewinnung und der Waidanbau kaum mehr eine nennenswerte Rolle, da er vom künstlichen Indigo

und dem Indigofera-Indigo sozusagen vollständig verdrängt ist. Der Farbstoff kommt als sogenannte „Waidkugeln" in den Handel. Dieselben werden aus dem Waid in der Weise hergestellt, daß man dessen Blätter schnell trocknet, mahlt und dann zu einem Teig verarbeitet, der einer vierzehntägigen Gärung überlassen wird. Aus dem gegorenen Teig fertigt man dann nach reichlichem Durchkneten desselben kleine, rundliche Ballen an, die getrocknet werden und nun als „Waidkugeln" zur Herstellung der Küpe in den Verkauf gelangen.

Bei der Waidgärung spielen sich sicherlich bakterielle Umsetzungen ab, die vielleicht auch für die Entstehung des fertigen Produktes eine gewisse Bedeutung besitzen. Näheres wissen wir darüber aber nicht. In den Blättern von Isatis tinctoria findet sich die als Isatan Beijerincks bekannt gewordene Indoxylverbindung, deren Spaltung durch die in der Pflanze gleichzeitig vorhandene Isatase bei der Bereitung herbeigeführt wird.

Die aus den Blättern von Polygonum tinctorium, dem „Färberknöterich", in China und Japan übliche Indigodarstellung fußt ebenfalls auf einem ähnlichen Gärungsprozeß.

Bei der Indigofärberei treten ebenfalls bei der Herstellung der Küpen Gärungsvorgänge auf, die aber wahrscheinlich durch Mikroorganismen herbeigeführt werden. Dieselben reduzieren das Indigoblau und führen es dadurch in eine wasserlösliche Verbindung über.

Bei der **Orseillegärung** spielen Bakterien eine hervorragende Rolle, wie aus den Untersuchungen Czapeks hervorgeht. Es wird dabei das Erythrin der Orseilleflechten in Orzellinsäure, Kohlendioxyd, Orzin und den vierwertigen Alkohol Erythrit zerlegt. Diese Spaltung geschieht durch Oxydationen und nebenher gehende Reduktionen. Besonders zu diesen Umsetzungen befähigt soll eine dem Heubazillus ähnliche Bakterienart sein, die aus faulendem Harn stammt, mit dem man gewöhnlich die Gärung bei der Orseillegewinnung ansetzt. Derselbe dient bei der Fabrikation als Ammoniak lieferndes Material, das man jetzt auch häufig durch Gaswasser ersetzt. Durch diese Bakterienart wird also Orzin abgespalten, das sich in der ammoniakalischen Lösung in Orzein umsetzt.

Die bei der Gewinnung von anderen Pflanzenfarbstoffen, wie Krapp aus der Wurzel mehrerer Rubiaarten, Rhamnetin aus den Gelbbeeren usw. einsetzenden Gärungen gehen wahrscheinlich lediglich auf Glykosid spaltende Enzyme zurück, die schon in der betreffenden Pflanze vorhanden sind. Dementsprechend kommen den sich ebenfalls dabei ansiedelnden Mikroorganismen im Verlaufe der Umsetzungen keine irgendwie nennenswerten Rollen zu.

R. Gerberei.

Bakterien und Pilze spielen auch in der Gerberei eine sehr wichtige Rolle, obwohl hier auch heute noch nicht mit Reinkulturen gearbeitet wird. Überhaupt sind die Einzelheiten der Bakterientätigkeit

dabei und auch die Mikrobenflora selbst noch wenig eingehend untersucht. Trotzdem weiß man heute, daß gewisse Mikroben die verschiedenen Prozesse in der Gerberei günstig beeinflussen, andere dagegen als Schädlinge auftreten.

Ohne auf die Technologie der Lederherstellung näher einzugehen, wollen wir nur kurz betrachten, mittels welcher Methoden man aus der tierischen Haut das Leder bereitet. Sobald dem Tiere die Haut abgezogen ist, muß sie entweder sofort den verschiedenen Gerbereiprozessen unterworfen oder durch rasche Trocknung oder durch Einsalzen der Tätigkeit der Fäulnisorganismen entzogen werden, da sie sonst sehr rasch durch dieselben vollkommen zerstört wird.

Diese Konservierungen der Häute müssen aber mit großer Vorsicht und Sachkenntnis gemacht werden. Das Trocknen soll jedenfalls schnell an schattigen Orten vor sich gehen. Geschieht der Trockenprozeß in der Sonne, was besonders in heißen Ländern gefährlich ist, so kann die Oberfläche rasch eintrocknen, wodurch das Austreten der Feuchtigkeit aus dem Innern verhindert und überdies eine hohe Temperatur erreicht wird. Die Folge ist ein Verleimen des feuchten Inneren der Haut, was zur Bildung von Blasen führt, die beim späteren Äschern herausfallen. Deshalb pflegt man in heißen Gegenden auch das Salzen mit dem Trocknen zu kombinieren, wobei man vor der Trocknung die Häute nur leicht mit Salz bestreut. Man bezeichnet solche Häute als „trockengesalzen". Wo Salz in genügender Menge billig zur Verfügung steht, wird man zur Konservierung jedenfalls das starke Einsalzen anwenden. Nach Procter verwendet man in den Schlachthäusern Chicagos folgende bewährte Einsalzmethode:

Nach dem Abziehen gelangen die Häute in Kellerräume, wo sie mit der Haarseite nach unten in einer Schicht aufgelegt werden. Die an der äußeren Seite liegenden Hauträndер werden, nachdem die Fleischseite tüchtig mit Kochsalz bestreut worden ist, eingeschlagen, so daß ein erhöhter Rand entsteht. Dadurch ist ein Abfließen des sich bildenden Salzwassers vermieden und die Lösung gezwungen, durch die Haut hindurchzusickern. Dann folgt wieder eine Lage von Häuten, die vom „Salzstreuer", einem Arbeiter, mit Hilfe einer Schaufel mit Salz bestreut wird. Im allgemeinen verwendet man eine Menge von Kochsalz, die ungefähr 25% des Hautgewichtes beträgt. So entsteht ein fast mannhoher Stoß von Häuten mit den eingestreuten Salzlagen. In diesem Stoß bleiben die Häute mindestens zwölf Tage, so daß sie jedenfalls vom Salz vollkommen durchdrungen werden. Man verwendet ausschließlich reines Kochsalz. Gewöhnliches Steinsalz ist nicht zu gebrauchen, da es als Verunreinigung in größerer oder kleinerer Menge Eisen und Kalziumsulfat enthält. Diese Verbindungen führen zum Auftreten von Flecken bei der Ausarbeitung des Leders.

Schon in der **Weiche,** in die die trockenen Häute vor der Weiterbehandlung eingelegt werden, können Fäulnisbakterien eine unliebsame Rolle spielen und die Häute verderben, was besonders leicht bei Anwendung von alten Weichen und höheren Temperaturen eintritt. In der Weiche verliert die Haut hauptsächlich plasmatische Substanz. Um ein Verderben der Häute möglichst hintanzuhalten, benützt man häufig die angeschärften Weichen. Man versteht darunter Weich-

brühen, welche einen Gehalt von 1—2% Ätznatron oder Schwefelnatrium enthalten, wodurch die Bakterienflora und damit auch ihre Tätigkeit auf ein Minimum herabgedrückt wird.

Wie schon angedeutet, wird die erweichte Haut nunmehr enthaart, was durch **Abschwitzen** oder **Äschern** geschieht. Das Leder liefern nicht alle Schichten der Haut, sondern nur jene tiefliegenden Partien, die man als Lederhaut oder Corium bezeichnet, während die äußerste Schicht, die Epidermis, samt der unmittelbar darunter liegenden Schleimhaut mit den Haaren entfernt wird. Die Freimachung und Bloßlegung der Lederhaut und die damit verbundene Enthaarung wird entweder durch das Schwitzen oder das Äschern vollzogen. Nur bei ersterem sind Bakterien in großem Umfange beteiligt. An den im Schwitzkasten untergebrachten erweichten Häuten spielt sich in kurzer Zeit ein intensiver Fäulnisprozeß ab, von dem besonders die Epidermis und die Schleimhaut ergriffen werden, so daß die Haare leicht mechanisch entfernt und die genannten unbrauchbaren Hautschichten abgeschabt werden können. An dem Fäulnisprozeß sind besonders Proteusarten beteiligt, wie Proteus vulgaris und mirabilis, obgleich sich dabei auch noch viele andere Bakterienarten einstellen. Geschieht das Schwitzen bei höherer Temperatur, bei welcher die Fäulnisvorgänge besonders energisch verlaufen, so kann leicht eine zu tief gehende Zersetzung Platz greifen, die zu einer Zerstörung der Lederhaut führt, was gewissenhaft zu vermeiden ist. Um dieser Gefahr auszuweichen oder sie mindestens herabzusetzen, verwendet man vielfach die „kalte Schwitze". Dieselbe geschieht in Schwitzkasten oder Räumen, in denen fortwährend kaltes Wasser verstäubt wird, so daß die Temperatur ständig unter 12° bleibt.

In frisch angesetzten Äschern ist die mikrobielle Tätigkeit bedeutungslos, während sie in länger in Gebrauch stehenden Äschern wesentlich an der Lösung des Plasmas beteiligt ist. In der frischen Brühe handelt es sich um mit den Häuten eingebrachte, Gelatine nicht verflüssigende Bakterienarten.

Die enthaarten, abgeschabten Häute, nunmehr Blößen genannt, werden nun **gewaschen,** was besonders für die in Äschern enthaarten Blößen wichtig ist, weil dabei ein großer Teil des darin niedergeschlagenen Kalkes entfernt wird. Beim Waschprozeß setzt besonders dann eine nennenswerte bakterielle Tätigkeit ein, wenn die Blößen stundenlang ruhig im Wasser liegen, da sich dann mitunter sehr kräftig hautzersetzende Mikroorganismen an denselben ansiedeln. Maßgebend dafür ist natürlich auch die Mikrobenflora des Waschwassers, der bei der modernen Gerberei ein besonderes Augenmerk zuzuwenden sein wird. So findet man bestimmte Bakterienarten, die die Haut in ihrer Gänze angreifen und zerstören, wie beispielsweise der Bacillus dendriticus oder der sogenannte „weiße Bacillus Maschek". Dann treten auch Bakterien in den Vordergrund, die die Blöße stellenweise tief zersetzen und so zu Lochbildungen Veranlassung geben, wie der Bacillus lactis albus und zahlreiche Kugelbakterien. Dementsprechend wäscht man jetzt in Wasser, das eine Säure zugesetzt erhält, die mit dem in den Blößen vorhandenen Kalk leicht lösliche Salze bildet, und hält dabei die Blößen in ständiger Bewegung.

Wie schon kurz mitgeteilt, werden die reingemachten Blößen nunmehr gebeizt. Die **Beize** hat den Zweck, einerseits die Lederhaut zu lockern und andererseits die noch vom Äschern her übriggebliebenen Kalkverbindungen zu entfernen. Die Lockerung der Hautfasern geht auf eine Zerstörung und Weglösung jener Plasmasubstanzen zurück, welche die Hautfasern in Fibrillenbündeln und in Fibrillen zusammenhalten. Demgemäß wird die Beizung dem gewünschten Zwecke, den das fertige Leder haben soll, angepaßt. Je weiter die Lösung in einzelne Fasern erfolgt, desto weicher und geschmeidiger wird das Leder werden.

Als Beize verwendet man nun Aufschwemmungen von Hundekot, Hühnermist und Taubenfäzes und spricht in diesen Fällen allgemein von Kotbeizen. Im Laufe der Zeit wurde in den einzelnen Kotbeizen eine sehr große Anzahl verschiedener Bakterien nachgewiesen, wobei es sich in erster Linie um Darmbewohner handelt. So wurden aus Hundekot allein ca. 90 mehr oder minder verschiedene Arten isoliert. Von diesen verschiedenen Bakterienarten sind aber nur verhältnismäßig wenige befähigt, die für das Beizen der Häute notwendigen Umsetzungen hervorzurufen. Für diese Umsetzungen in den Beizen kommen in erster Linie folgende Bakterien in Betracht: Bacillus prodigiosus, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis, Bacillus aërogenes und Bacillus gasoformans, sofern man unmittelbar vom Hundekot ausgeht. Becker gelang es bei seinen Untersuchungen zur Aufklärung der Wirkung des Aufgusses von Hundekot, aus demselben vierundfünfzig Bakterienarten zu isolieren, von denen sich der Bacillus erodiens als besonders wirksam erwiesen hat. Derselbe steht dem Bacterium coli nahe. In Nährbouillon mit einem Zusatz von Glykose vergärt er letztere sehr stark, wobei neben einem Gasgemisch von vorwiegend Kohlendioxyd und Wasserstoff kräftig Säure gebildet wird. Der Bacillus erodiens zersetzt komplexere Eiweißabbauprodukte und Eiweiß tief bis zu einfachen Ammoniakverbindungen.

Die Mykologie des Taubenmistes zeigt, daß die Mikrobenflora in demselben anders geartet ist als im Kote der Fleischfresser. Auch die Wirkung der aus Taubenmist oder Hühnerfäzes hergestellten Beizen unterscheidet sich von derjenigen des Hundekotes in erster Linie durch die Größe der Wirkung.

Um den Beizprozeß mit den meist gebräuchlichen Kotbeizen auf eine einheitliche Basis zu stellen, war man bestrebt, aus der großen Anzahl der aus Kot isolierbaren Bakterien jene auszuwählen, auf deren Tätigkeit eigentlich die Wirkung der Beize selbst zurückgeht. So hat Becker unter der Bezeichnung „Erodin“ ein Präparat hergestellt. das zur Anstellung einer künstlichen Hundekotbeize dient. Dieses „Erodin“ besteht der Hauptmenge nach aus einer Reinkultur des Bacillus erodiens. Für den Gebrauch wird das Nährpulver mit 40° warmem Wasser versetzt und mit der Reinkultur geimpft. Es hat sich gezeigt, daß diese Beize sehr energisch auf die Blößen einwirkt und dabei die gewünschten Beizwirkungen sehr gleichmäßig herbeiführt. Es wurde noch eine Reihe von künstlichen Kotbeizen mit mehr oder minder Glück als Ersatzstoffe für die Gerberei in Vorschlag gebracht; einführen konnten sich diese letzteren Ersatzstoffe in der Praxis bis jetzt nicht. Jedenfalls bietet die Verwendung einer mit Reinkultur bereiteten Beize den großen

Vorteil der Gleichmäßigkeit des Produktes einerseits und der Reinlichkeit und Ungefährlichkeit der Bereitung andererseits. Die Herstellung der Beizen unmittelbar aus dem Hundekot ist für den betreffenden Arbeiter gewiß nicht ungefährlich, da außer Infektionen mit tierischen Parasiten auch bei kleinen Hautverletzungen äußerst unangenehme bakterielle Infektionen vorkommen können.

Wo es sich um besonders zügige Ledersorten handelt, wie beim Handschuhleder, bewerkstelligt man die entsprechende Isolierung und Lockerung der Hautfibrillen in der Kleienbeize, in der sich alsbald eine energische Gärung etabliert, die infolge der dabei auftretenden Gasbildung mechanisch die Auflockerung herbeiführt. Die Beize stellt man durch Übergießen von gewaschener Kleie mit mäßig warmem Wasser her. Dahinein kommen die Blößen. Die Gärung und Gasbildung verursacht in dieser Beize der Bacillus furfuris, der übrigens mit dem früher genannten Bacillus gasoformans identisch zu sein scheint. Natürlich findet sich daneben noch eine Reihe anderer Mikroorganismen. An Gasen werden in der Kleienbeize Wasserstoff, Methan und Kohlendioxyd gebildet. An Stelle der sonst konstant auftretenden Milchsäuregärung kommt es mitunter zu einer Buttersäure- oder Essigsäuregärung, was aber zu Fehlbeizen führt. Normalerweise schwellen die Blößen in der Beize auf etwa die doppelte Dicke an.

In vielen Fällen wendet man auch kombinierte Beizen an, indem man Ansätze von Kleie u. dgl. mit Mist herstellt. In diesen kombinierten Beizen soll der Bacillus subtilis besonders günstig wirken. Aus diesem Grunde benützt man auch Beizen, die unmittelbar mit Reinkulturen dieser Bakterienart und Leim und Kleie usw. angesetzt werden.

Sehr oft stellen sich bei diesen Beizen, sofern nicht von Reinzuchten passender Mikroorganismen ausgegangen wird, Fehler ein, die zu minderwertigen Produkten führen. Kommt es zu einem Faulen der Kleienbeize, so zeigen die Blößen eine bläuliche Verfärbung und werden löcherig und rissig. Mitunter überzieht sich die Blöße in der Kleienbeize mit einem schleimigen, schmierigen, weißlichgrauen Belag, der aus Zoogloeën des Bacillus megatherium besteht. Dort verliert die Ledernarbe ihren Glanz und bleibt auch nach der eigentlichen Gerbung blind. Hier ist auch das sogenannte Glasigbeizen zu nennen, bei dem die Blößen glasig aufschwellen. Diese Erscheinung tritt bei starker Essiggärung der Kleienbeize auf.

Die geschwellten und gebeizten Blößen werden nun mit Gerbstoffen behandelt, **gegerbt**. Wenn es sich um feste Ledersorten, wie Sohlenleder usw., handelt, dann gerbt man vielfach in der Lohgrube. Darin ist jede Blöße ungefähr 3—4 cm dick jederseits mit frischer, grobzerkleinerter Lohe, die auch mit Knoppernmehl gemischt ist, bedeckt. Nachdem die ganze Grube in dieser Weise mit Blößen und Lohe gefüllt ist, läßt man bis zur vollständigen Bedeckung Wasser zufließen. Nach etwa acht bis zehn Wochen werden die Blößen umgebettet und neuerlich mit Lohe in der angegebenen Weise behandelt. Diese Umlagerung wird so oft wiederholt, bis die Blöße ausgegerbt oder das Leder „lohgar“ geworden ist. Meist genügt ein drei- bis fünfmaliges Umbetten. Über die in der Lohgrube herrschenden mikrobiellen Umsetzungen wissen wir noch nichts Genaueres.

Die Gerbung besonders der feineren, dünneren Ledersorten geschieht meist in einem wässrigen Auszug der Gerbmaterialien, den man Lohbrühe nennt. Auch hier findet ein Eintritt der Gerbstoffe in die Blöße statt. Außerdem stellen sich aber noch zahlreiche Umsetzungen und Gärungen in der Brühe ein, die einen Einfluß auf den Gang der Gerbung und damit auch auf das endgültige Produkt ausüben. Dies gilt ganz besonders von der Säurebildung, die in diesem Falle auf eine reine Mikroorganismentätigkeit zurückgeht. Die Mikroben sind teilweise von vornherein auf den Gerbmaterialien, teilweise gelangen sie mit dem Wasser und aus der Luft in die Brühe und endlich werden sie je nach der Vorbehandlung der Blößen mit diesen mehr oder minder zahlreich eingebracht. Die Gesamtflora der Lohbrühe setzt sich dementsprechend vornehmlich aus Fäulnisbakterien und Gärungsorganismen zusammen.

In den normal arbeitenden Lohbrühen findet man an Gärprodukten in erster Linie Alkohol in einer Menge von höchstens 2%. Größere Quantitäten sind sehr selten und als Ausnahmebefunde zu betrachten. Hefen, wie Saccharomyces Pastorianus, Saccharomyces ellipsoideus, Hansenia apiculata und Torulaceen bewirken hier die alkoholische Gärung. Entsprechend letzterer findet auch eine ausgiebige Kohlensäurebildung statt. Daß es nicht zu sehr großen Alkoholmengen kommt, hat den Grund in dem Einsetzen einer nicht unbeträchtlichen Essigsäuregärung, durch die der gebildete Alkohol zum größten Teile verschwindet. Diese entstandene Essigsäure wird häufig durch Mykodermaarten weiterverbrannt. Diese unerwünschte Oxydation unterdrückt man durch das „Treiben" der Lohbrühen, das in einem häufigen Umrühren derselben besteht.

Nach dem Ablauf der Alkohol- und Essigsäuregärung setzt eine Milchsäuregärung in der Brühe ein. Dieselbe scheint von mehreren Erregern durchgeführt zu werden, von denen in den einzelnen Stadien die einen oder anderen vorherrschen. Neben den uns schon bekannten Milchsäurebakterien sollen übrigens in den Brühen noch für dieselben spezifische Milchsäureerreger vorkommen und auch eine milchsäurebildende Hefe, Saccharomyces acidi lactici Grotenfelt.

In sehr alten, jahrelang in Gebrauch befindlichen Brühen findet man meist, wenn auch in geringer Menge, Buttersäure. Es dürfte sich hier wohl um eine Buttersäuregärung des milchsauren Kalkes handeln, der sich in viel benützten Brühen stets in erheblicher Menge findet.

Die in der Brühe vorhandenen Gerbstoffe können die Mikroorganismentätigkeit in derselben in den Konzentrationen, wie sie in der Praxis im Maximum vorkommen und höchstens 25% betragen, niemals unterdrücken. Es werden die Umsetzungen bei niedrigem Gerbstoffgehalt nur rascher verlaufen als bei höherem. An Kohlehydraten mangelt es in den Lohbrühen ebenfalls nicht, und für eine genügende Stickstoffmenge ist durch die eingebrachten Blößen gesorgt. Entsprechend der Menge der vergärbaren Kohlehydrate wird die Säurebildung ausfallen, und durch Vermehrung derselben hat man eine gewisse Beeinflussung der Säuerung in der Hand. Dafür, daß es nicht zu einer Fäulnis in der Lohbrühe trotz der zahlreich anwesenden und immer frisch eingebrachten Fäulnisbakterien kommt, sorgen Hefen und Bakterien durch die Alkohol- und Säureproduktion.

S. Schwefelbakterien.

In der freien Natur entstehen durch bakterielle Tätigkeit fortwährend namhafte Mengen von **Schwefelwasserstoff,** der aus den verschiedensten Verbindungen stammt. Vorwiegend werden von Bakterien Eiweißstoffe unter Bildung von Schwefelwasserstoff abgebaut. In zweiter Linie spielen dann noch anorganische, schwefelsaure und schwefligsaure Salze eine Rolle für das Entstehen von Schwefelwasserstoff. Dabei müssen wir immer im Auge behalten, daß von allen Bakterien beim Aufbau ihres Protoplasmas Schwefelverbindungen gebraucht werden, die vielleicht nach einer Reduktion in die Synthese beim Eiweißaufbau eintreten. Auch die Bildung des Schwefelwasserstoffes scheint vornehmlich in Reduktionen des Eiweißmoleküles ihre Ursache zu haben und nicht in einer Abspaltung von in demselben bereits vorgebildeten H_2S-Gruppen. Das gleiche gilt für die Entstehung von Schwefelwasserstoff aus sauerstoffhaltigen anorganischen Schwefelverbindungen, von denen in erster Linie Sulfate und Thiosulfate und Sulfite von Bedeutung sind. Es hat sich nun herausgestellt, daß die Fähigkeit der Bildung von reichlichen Mengen Schwefelwasserstoffes eine spezifische Eigenschaft einzelner Mikroorganismen ist. Dieselbe hängt unmittelbar mit dem Protoplasma der betreffenden Mikroben zusammen, das eben zur Ausführung von Reduktionen der schwefelhaltigen Verbindungen befähigt ist und dieselben wahrscheinlich mit seinem Kohlenstoff oder aber durch Methan und Wasserstoff, die als Stoffwechsel- und Gärprodukte auftreten, durchführt.

Die Sulfatreduktion kann entsprechend den folgenden allgemeinen Formeln vor sich gehen, wobei das entstandene Sulfit durch Kohlendioxyd und Wasser unter Schwefelwasserstoffausscheidung weiter zersetzt wird.

$$RSO_4 + 2C = 2CO_2 + RS$$
$$RS + CO_2 + H_2O = H_2S + RCO_2.$$

Die erste Etappe der Sulfatreduktion kann aber auch unter Aufnahme von Wasserstoff erfolgen, entsprechend der Formel:

$$RSO_4 + 8H = 4H_2O + RS.$$

Die weitere Umwandlung erfolgt wie oben angegeben.

Abgesehen von zahlreichen Fäulniserregern, die bei der Zersetzung des Proteinmoleküles mehr oder minder große Mengen von Schwefelwasserstoff ergeben, finden sich noch besondere Bakterienarten, die in erster Linie kräftig Sulfate reduzieren. Vor allem ist da Microspira desulfuricans Beijerinck zu nennen, eine streng anaërobe Bakterienart aus Grabenschlamm. Sie ist ein ausgesprochener Bewohner des süßen Wassers, die eine ca. 1 μ dicke und 4 μ lange Spirille vorstellt. Die Reduktion des Gipses durch die Microspira desulfuricans dürfte entsprechend folgenden Formeln erfolgen:

$$CaSO_4 + 8H = 4H_2O + CaS$$
$$CaS + CO_2 + H_2O = CaCO_3 + H_2S.$$

Auch im Meerwasser findet eine reichliche Reduktion von Sulfaten statt, die aber hier die Microspira aestuaria Van Delden besorgt, die mit der bereits genannten Microspira desulfuricans wohl verwandt, aber nicht identisch ist. Übrigens ist die Fähigkeit der Sulfatreduktion, bzw. der Reduktion von Sulfiten und Thiosulfaten im Reiche der Bakterien und Hefen ziemlich weit verbreitet.

Neben dieser Reduktion von schwefelhaltigen Verbindungen finden wir aber noch eine unmittelbare Vereinigung von freiem Schwefel mit Wasserstoff zu Schwefelwasserstoff, welchen Vorgang man auch als Hydrogenisation des Schwefels bezeichnet. Dieselbe scheint überhaupt mit reduzierenden Fäulnisvorgängen verknüpft zu sein, also ebenfalls in letzter Linie auf bakterielle und auch rein enzymatische Vorgänge zurückzugehen. Dieselbe Eigenschaft der Reduktion freien Schwefels soll übrigens dem Philothion innewohnen, jener aus dem Hefepreßsaft durch Ausschüttelung desselben mit wässerigem Äthylalkohol von 86 Proz. ausziehbaren Substanz. Diese wird durch längere Erwärmung auf 70° C getrübt, wobei sie die Eigenschaft der Schwefelreduktion dauernd verliert.

Durch die sich im großen in der freien Natur besonders in der wärmeren Jahreszeit abspielenden Bildungen reichlicher Schwefelwasserstoffmengen kann eine nicht unbedeutende Gefahr für die umwohnenden Menschen und Tiere entstehen, da sich der Schwefelwasserstoff in erster Linie dort zeigt, wo große Mengen tierischer und pflanzlicher stickstoffhaltiger Abfallprodukte im Wasser faulen. Dies trifft besonders für Kanäle, Stadtgräben, stagnierende, sehr verunreinigte kleine Gewässer und unreine Teiche zu. Aber auch in großen natürlichen Wasserbecken stellt sich eine beachtenswerte Menge von Schwefelwasserstoff ein, da ja auch hier zahlreiche Tierleichen der Fäulnis unterworfen sind. Im Meere kann unter Umständen durch ausgedehnte Sulfatreduktionen ebenfalls ein großer Gehalt an Schwefelwasserstoff geschaffen werden, wie z. B. im Schwarzen Meere, wo in größeren Tiefen unter 200—400 Metern gegen den Grund zu eine beträchtliche Zunahme desselben zu beobachten ist. So ergaben die Untersuchungen Lebendinzeff's im Liter Wasser aus dem Schwarzen Meere folgende Werte für den Schwefelwasserstoffgehalt:

Tiefe in Metern	mg H_2S im Liter
213	0,50
427	3,38
2026	8,45
2528	9,98

Auch in Salzseen, wie im Weissowo-Salzsee Rußlands, nimmt der Schwefelwasserstoff mit der Tiefe zu, wie folgende Zahlen der Bestimmungen Nadson's dartun:

Tiefe in Metern	mg H_2S im Liter
16	9,00
18,1	134,51
18,7	281,73

Der Ritomsee in der Schweiz ist nach den Angaben von Düggeli und später von Schwyzer in verhältnismäßig geringer Tiefe außerordentlich reich an Schwefelwasserstoff: Mellet hat folgende Mengen erhalten:

Tiefe in Metern	mg H_2S im Liter
12	0,0
13	6,1
13,5	19,4
20	26,0
25	28,0
30	30,5

In diesem Falle handelt es sich vornehmlich um bakterielle Sulfatreduktionen, da gerade diesem See nur sehr geringe Mengen fäulnisfähiger, organischer Substanz zugeführt werden. Wohl aber dürften sich dort am Seegrund stellenweise Gipslager finden. Der in Luzern befindliche Rotsee weist wieder ganz andere Mengen von Schwefelwasserstoff auf, der aber in erster Linie auf Fäulnisprozesse zurückgeht.

Nach den Analysen von Schwyzer ergeben sich folgende Werte:

Tiefe in Metern	mg H_2S im Liter
4	3,6
5	4,6
6	4,9
8	5,8
10	7,5
13	7,48
15	6,04

Daß in den an das Schwarze Meer angrenzenden Meeren in den oberflächlichen Schichten kein Schwefelwasserstoff nachweisbar ist und er hier auch nur auf die größten Tiefen beschränkt bleibt, hat seinen Grund in mangelhafter Durchmischung der Wassermassen, die unterhalb von 170 Metern sich in vollständiger Ruhe befinden. Keine Strömung besorgt hier mehr eine Abfuhr des unreinen und eine Zufuhr frischen Meerwassers, und das hohe spezifische Gewicht der tiefen Wassermassen verhindert jedes Auftreten einer Vertikalströmung in denselben. Deshalb kommt es auch im Schlamme des Meeresgrundes zu einer ungestörten anaeroben Fäulnis der in großen Mengen vorhandenen organischen Substanz bei Gegenwart von reichlichen Sulfatmengen des Meerwassers, wobei in großen Quantitäten Schwefelwasserstoff entsteht.

Der Limanschlamm, der von dem Grunde der Limane stammt, jener kleinen Salzseen an der Küste des Schwarzen Meeres, die nur ein niedriger und schmaler Landstreifen von dem Meere trennt, ist infolge des Schwefeleisengehaltes tiefschwarz gefärbt, sofern die Luft abgeschlossen ist. Außerdem entströmt ihm reichlich Schwefelwasserstoff.

Bei freiem Zutritt des Luftsauerstoffes wird der Limanschlamm grau, indem das Schwefeleisen oxydiert wird. Sobald der oxydierte Schlamm wieder mit der Salzsole bedeckt wird, schwärzt

er sich alsbald von neuem. Diese Schwärzung geht auf Mikroorganismen zurück, die aus den vorhandenen stickstoffhaltigen organischen Substanzen Ammoniak und Amide abspalten und durch ihre reduzierenden Eigenschaften Schwefelwasserstoff liefern. Mit letzteren in alkalischer Lösung zusammentretende Eisensalze ergeben eine plastische Masse von feinverteiltem schwarzen kolloidalen Schwefeleisenhydrat, das die feinen Lehm- und Sandteilchen im Limanschlamm sozusagen zusammenhält und ihm sein kennzeichnendes Aussehen und charakteristisches Gepräge verleiht.

Bisher haben wir nur von einer ausgiebigen Produktion von Schwefelwasserstoff in der Natur unter verschiedenen Bedingungen gehört. Daß wir das reichliche Auftreten dieses für die höheren Tiere und Pflanzen sehr giftigen Gases nicht besonders unangenehm empfinden, hat seine Ursache in zahlreichen gleichzeitig verlaufenden Oxydationsvorgängen, die den Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure verbrennen, die sich weiter zu recht nützlichen Salzen umsetzt. Diese Oxydation vollzieht sich unter dem Einfluß des Luftsauerstoffes als rein chemischer Vorgang sowohl in den durchlüfteten Partien des mit Schwefelwasserstoff geschwängerten Wassers als auch in der Luft und im Boden.

Viel energischer verlaufen aber diese Oxydationsprozesse unter Mitwirkung der in der Natur ebenfalls weit verbreiteten **Schwefelbakterien**, von denen man heute schon eine stattliche Reihe von Arten mehr oder minder genau kennt. Sie alle sind dadurch ausgezeichnet, daß sie in ihrem Protoplasma Schwefel von eigenartiger Beschaffenheit (vgl. S. 43) in Form von Kügelchen massenhaft speichern, entsprechend der Menge vorhandenen Schwefelwasserstoffes. Der Schwefel entsteht dabei als erstes Oxydationsprodukt des Schwefelwasserstoffes, der mit Hilfe des freien Luftsauerstoffes verbrannt wird. Der in den Zellen nur kurze Zeit normalerweise niedergelegte Schwefel ist aber nur ein Zwischenprodukt des gesamten Oxydationsprozesses, den die Schwefelbakterien durchführen, denn alsbald wird derselbe zu Schwefelsäure weiterverbrannt. Letztere setzt sich sofort mit den stets vorhandenen Karbonaten um, von denen das Kalziumkarbonat wohl die wesentlichste Rolle spielt: Dementsprechend findet also durch diese Organismen eine ständige Umwandlung von Karbonaten in Sulfate statt.

Die Oxydation des Schwefelwasserstoffes zu Schwefelsäure über freien Schwefel, die unter günstigen Verhältnissen in etwa fünf Minuten vollzogen ist, findet also in zwei Etappen statt, entsprechend den Gleichungen:

$$2\,H_2S + O_2 = 2\,H_2O + S_2$$
$$S_2 + 3\,O_2 + 2\,H_2O = 2\,H_2SO_4.$$

Die im Wasser befindlichen Karbonate ($Ca\,CO_3$ oder $Ca\,H_2\,[CO_3]_2$) neutralisieren die dabei entstehende Schwefelsäure.

Zur Bildung des Schwefelwasserstoffes aus Sulfaten sind die Schwefelbakterien aber nicht befähigt, denn ohne vorhandenen Schwefelwasserstoff können dieselben in Sulfate

enthaltenden Nährsubstraten nicht gedeihen. Sie verbrennen dabei den etwa noch gespeicherten Schwefel zu Schwefelsäure und gehen dann innerhalb kurzer Zeit ein.

Nach den Untersuchungen Winogradskys, dem wir die grundlegenden Forschungen über die physiologische Gruppe der Schwefelbakterien verdanken, scheint es zu Recht zu bestehen, daß auch diese Organismen ebenso wie die Nitrifikationsbakterien nicht nennenswerter Mengen organischer Nahrung bedürfen und sogar ohne dieselbe ihr Auslangen finden, sofern ihnen nur die passende Menge von Schwefelwasserstoff als Ersatz der Kohlenstoffquelle, wie sie andere Arten verlangen, zur Verfügung steht. Jedenfalls sind sie gegen größere Mengen organischer Nährstoffe sehr empfindlich, weshalb ihre Züchtung in den Nährgelatinen usw. bisher mißlang.

Wie wir schon gehört haben, müssen die Schwefelbakterien zwei Gase, Sauerstoff und Schwefelwasserstoff zur Verfügung haben, die aber deshalb nicht in einer Mischung vorkommen können, da sonst eine Oxydation sofort eintreten müßte, die Schwefel und Wasser außerhalb der Zelle gibt. Demnach entnimmt die Schwefelbakterienzelle Sauerstoff der Oberfläche und Schwefelwasserstoff der Tiefe der Flüssigkeit. Die Bakterien stellen sich also dort in Form einer dünneren oder dickeren Schicht ein, wo die Grenze zwischen Schwefelwasserstoff und Sauerstoff in der Flüssigkeit liegt. So entstehen in derselben schwebende Bakterienansammlungen, die als „Bakterienniveaus" Bejerinck's und „Bakterienplatten" Jegunow's bekannt sind. Die Stellung und Lage dieser Ansammlungen werden natürlich einem ständigen Wechsel unterliegen, entsprechend dem herrschenden Luftdruck, mit dem sich auch der Sauerstoffdruck in der Flüssigkeit ändert und der Menge des Schwefelwasserstoffes. Außerdem wird die Gesamtflora an Schwefelbakterien noch wesentlich von diesen Momenten beeinflußt, da die einzelnen Arten verschiedene Sauerstoff- und Schwefelwasserstoffoptima aufweisen.

Wir wollen uns nun in aller Kürze mit den bekanntesten Schwefelbakterien etwas näher befassen. Dieselben werden gewöhnlich in zwei größere Gruppen, die farblosen Schwefelbakterien und die Bakterienpurpurin führenden Schwefelbakterien, eingeteilt. Abgesehen vom Farbstoff unterscheiden sie sich auch dadurch, daß erstere maximal geringere Mengen von Schwefelwasserstoff vertragen als letztere, die selbst in konzentrierten Lösungen desselben noch zu leben vermögen.

Die Schwefelbakterien bilden entweder lange und breite Zellfäden, die sich in Flüssigkeiten frei bewegen oder an Unterlagen festsitzen oder als einzelne oder während der Teilung zu zweit vereinte Zellen wachsen.

Von den in freien Zellfäden vereinten Schwefelbakterien wurden schon einige Arten näher untersucht, die man in der Familie der Beggiatoacëen vereinigt. In *A*, *B* und *C* der Figur 146 sind drei derselben abgebildet, an denen die einzelnen Fadenglieder nicht zu sehen sind. Zu dieser Figur ist nur noch zu bemerken, daß alle Abbildungen derselben bei annähernd 900facher Vergrößerung ange-

fertigt sind, so daß dieselben zugleich einen Einblick in die Größenverhältnisse der Schwefelbakterien überhaupt gestatten.

A entspricht einem Stück des Zellfadens von Beggiatoa alba Winogradsky, in dem die Schwefelkügelchen gut zu sehen sind. Diese zylindrischen Zellfäden, deren Länge oft mehr als einen Zentimeter erreicht und die daher schon mit freiem Auge sichtbar sind, bewegen sich lebhaft. Die Dicke derselben mißt 2,8—2,9 μ, während die Länge des einzelnen Fadengliedes zwischen 2,9 und 5,8 μ schwankt. *B* zeigt uns ein Stück vom Zellfaden der Beggiatoa media, deren Fadenbreite 1,6—1,7 μ beträgt, während die einzelnen Glieder eine Länge von 4—8,5 μ aufweist. In *C* endlich sehen wir bei derselben Vergrößerung die Beggiatoa minima abgebildet, deren Fäden sich aus nur 0,8 μ in der Breite messenden Fadengliedern zusammensetzen. *D* zeigt uns den Riesen unter den Beggiatoën, Beggiatoa mirabilis Cohn in einem optischen Längsschnitt nach Hinze. Es handelt sich bei dieser Art um zylindrische Fädenverbände, deren Glieder bis 45 μ in der Breite messen und eine etwa halb so große Länge aufweisen. Das Protoplasma erscheint durch zahlreiche Vakuolen zerklüftet und enthält reichlich größere und kleine Schwefelkörner, sofern bei genügendem Schwefelwasserstoffgehalt der Nährflüssigkeit gezüchtet wird.

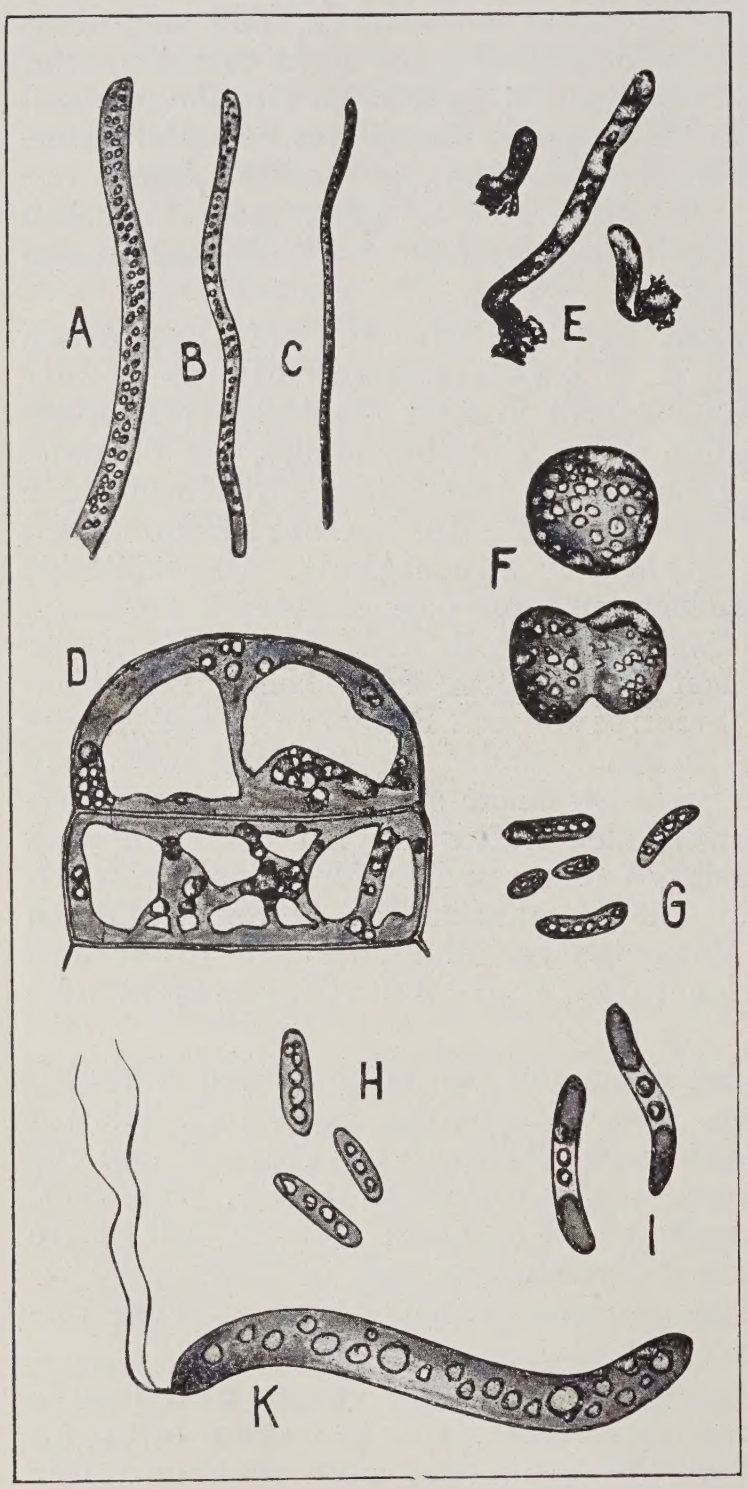


Fig. 146.

Die bisher genannten Arten gehören zur Süßwasser- und Schwefelquellenflora. Molisch fand dann in einem faulenden Algeninfus in Triester Meerwasser eine Beggiatoa marina Molisch, deren Fadendicke 2—4 μ betrug.

Als zweite Gattung der Schwefelbakterien sind einige

Thiothrixarten zu erwähnen. Dabei handelt es sich um seßhafte farblose Schwefelbakterien, die längere Zellfäden ausbilden. Durch Erzeugung eines schleimigen Haftpolsters an einem Fadenende setzen sie sich auf Unterlagen fest, während der Faden selbst samt dem anderen Ende frei in die Flüssigkeit hineinragt. Den festsitzenden Teil machen breitere und kürzere Zellen aus, während gegen das freie Ende zu eine Verjüngung des Zellfadens und Zunahme der Länge der einzelnen Fadenglieder zu beobachten ist. Die einzelnen Zellen liegen bei der Gattung Thiothrix in einer sehr dünnen, aber deutlichen Scheide. Wir beobachten bei ihnen auch eine Konidienbildung, indem am freien Ende die äußerste Zelle den Faden verläßt, eine Zeit herumkriecht, dann an einem Ende den Haftpolster ausbildet und die Grundlage für einen neuen Zellfaden abgibt. Man unterscheidet entsprechend der Fadendicke mehrere Arten, von denen zuerst die in Figur 146 *E* abgebildete Thiothrix nivea Winogradsky genannt sei, deren Faden an der Basis 2—2,5 μ breit ist, während die Spitze nur 1,4—1,5 μ in der Breite mißt. Dann haben wir die etwas schmälere, aber in der ganzen Länge weniger ungleich breite Thiothrix tenuis und die sehr dünne Thiothrix tenuissima zu nennen. Weiter sind hier noch zwei marine Formen, Thiothrix anulata Molisch und Thiothrix marina Molisch aufzuführen.

Als zweite Familie der Schwefelbakterien müssen die freilebenden, nicht zu Fäden vereinten Arten zusammengefaßt werden, die als Achromatiaceen bezeichnet sind. Wir finden unter ihnen Kugel-, Stäbchen- und Schraubenformen. Als riesige Kugelbakterie sei hier die Thiophysa volutans Hinze erwähnt, eine marine Form aus dem Golf von Neapel, deren Durchmesser 7—18 μ beträgt. Wir sehen sie in Ruhe und bei der Teilung in *F* der Figur 146 wiedergegeben.

Eine unbewegliche Stäbchenform ist das Bacterium Bovista Molisch aus Meerwasser, das in *G* der Figur 146 wiedergegeben ist. Es erzeugt nahe der Oberfläche blasenförmige Kolonien und enthält meist 2—4 Schwefelkörnchen.

Von beweglichen Stäbchen-Schwefelbakterien seien zuerst die von Jegunow untersuchten genannt, deren Spezies α eine Länge von 4,5 und 9 μ und Breite von 1,4—2,3 μ aufweist, während die Spezies β nur 2,5—5 μ in der Länge und 0,6—0,8 μ in der Breite mißt.

Molisch beobachtete im Meerwasser den Bacillus thiogenus Molisch, der in *H* der Figur 146 abgebildet ist.

Auch Schwefel führende Spirillen wurden von verschiedenen Forschern gesehen und beschrieben. Besonders erwähnt sei das in *I* der Figur 146 gezeichnete Spirillum bipunctatum Molisch, das sich im Triester schwarzen Meeresschlamm ansiedelte. Ein Riesenspirillum aus Süßwasser ist das Spirillum granulatum Molisch, dem *K* der Figur 146 entspricht.

Wie schon aus dem bisher Mitgeteilten zu entnehmen ist, befindet sich der natürliche Standort von Schwefelbakterien überall dort, wo im Wasser durch Zersetzung organischer Substanz Schwefelwasserstoff frei wird und sich im Wasser in Lösung befindet. Demnach finden wir sie reichlich im seichten Meerwasser und auch im organisch verunreinigten Süßwasser, außerdem aber auch dort, wo eine genügende

mineralische Nahrung vorherrscht und gleichzeitig Schwefelwasserstoff vorhanden ist, wie in zahlreichen Mineral- und Schwefelquellen. Im Anschluß an die echten Schwefelbakterien, die also Schwefelwasserstoff zu Schwefel und weiterhin Schwefelsäure oxydieren, müssen wir jener Organismengruppe gedenken, deren Vertreter zwar keinen freien Schwefel in ihrem Innern speichern, wohl aber Thiosulfate zu Tetrathionsäure und Schwefelsäure zu oxydieren vermögen. Man kann sie mit Recht unter Bezugnahme auf ihre biologische Leistung als „Thionsäurebakterien" mit Omelianski bezeichnen. Der Verlauf dieser Oxydationen scheint nach den Formeln

$$3\,Na_2S_2O_3 + 5\,O = Na_2S_4O_6 + 2\,Na_2SO_4 \quad \text{oder}$$
$$Na_2S_2O_3 + O = Na_2SO_4 + S$$

vor sich zu gehen. An der Oberfläche der Flüssigkeit, in der die Thionsäurebakterien diese Oxydationen besorgen, findet sich allerdings eine feine Ausscheidung von Schwefel, die aber auf sekundäre Umsetzungen der entstandenen Tetrathionsäure mit dem noch unzersetzten Thiosulfat zurückzuführen sind und mit einer unmittelbaren bakteriellen Tätigkeit nichts zu tun haben.

Die durch Nathanson und später durch Beijerinck bekannt gewordenen Bakterien, die eine Oxydation von Thiosulfaten herbeiführen, sind kleine Stäbchen, die sich lebhaft bewegen und immer an der Oberfläche von Flüssigkeiten ansiedeln, um reichlich mit Sauerstoff versorgt zu sein. Sie begnügen sich mit anorganischen Salzlösungen und benützen als Kohlenstoffquelle entweder die Kohlensäure der Luft oder kohlensaure Salze, ohne daß diese Verbindungen etwa durch Traubenzucker oder andere organische Verbindungen ersetzbar wären. Als typischer Vertreter dieser Bakteriengruppe kann der Thiobacillus thioparus genannt werden.

Zu erwähnen ist dann noch der Thiobacillus denitrificans Beijerinck, über dessen denitrifizierende Eigenschaften wir schon früher Genaueres erfahren haben (vgl. S. 296). Auch diese Art vermag eine Oxydation festen, elementaren Schwefels zu Schwefelsäure herbeizuführen, also eine Teilleistung der echten Schwefelbakterien zu verrichten, ohne selbst im Innern Schwefel zu speichern oder eine Oxydation des Schwefelwasserstoffes einzuleiten.

Neben den farblosen Schwefelbakterien finden sich in der Natur auch die Schwefel führenden Purpurbakterien, die in der Unterordnung der Rhodo-Thiobacteria vereinigt sind (vgl. S. 174). Auch ihr Vorkommen ist an die Gegenwart von Schwefelwasserstoff gebunden. Die roten Schwefelbakterien vertragen aber bedeutend größere Mengen von H_2S und siedeln sich vornehmlich dort an, wo eine starke Konzentration des Schwefelwasserstoffes bei niedrigem Gehalt an organischen Stickstoff- und besonders Kohlenstoffquellen vorliegt. Außerdem spielt das Licht bei der Ernährung der roten Schwefelbakterien insofern eine bedeutende Rolle, als es unter Mithilfe des Bacteriopurpurins bei der Assimilation, bzw. bei der Gewinnung des zur Oxydation des Schwefelwasserstoffes notwendigen Sauerstoffes mitwirkt.

Diese Oxydationen gelten nun ganz allgemein als besonders energieliefernde Prozesse, von denen die Zellen dieser

Bakterienarten vollauf ihren Energiebedarf gedeckt erhalten, da sie exothermisch verlaufen und eine große Anzahl von Kalorien liefern. Da durch sie Wärme produziert wird, also Energie in Form von Wärme frei wird und als solche gemessen und bestimmt werden kann, haben sie eigentlich jeden Wert als Energiequelle nach der bisher üblichen Anschauung verloren. Denn wie wir schon bei der Atmung hörten, kann ein Prozeß, bei dem Energie in Form von Wärme frei wird, der Zelle selbst keine Energie mehr liefern, da die gebildete Wärme alsbald von der Umgebung abgeleitet wird und dadurch für die Zelle auf immer verloren ist. Allerdings können die bei den Schwefelbakterien bekannt gewordenen Oxydationen des Schwefelwasserstoffes zu Schwefel und weiterhin zu Schwefelsäure sehr energieliefernd sein, indem dabei das Endprodukt Schwefelsäure eine hochosmotisch wirksame Substanz ist. Gerade die Untersuchungen auf Energiegewinn an diesen verhältnismäßig einfachen Verbindungen und leicht zu überschauenden Umsetzungen werden vielleicht einen richtigeren Einblick in die wahren Verhältnisse ergeben, als alle Berechnungen von Kalorien bei der Verbrennung von hochkomplexen Verbindungen.

Wenn wir nun die Umsetzungen und Wandlungen des Schwefels kurz zusammenfassen, kommen wir zu folgenden Ergebnissen:

In der Natur findet eine reichliche Schwefelwasserstoffbildung vornehmlich durch Reduktionen statt, die besonders am Proteinmolekül und sauerstoffhaltigen anorganischen Schwefelverbindungen angreifen und von zahlreichen Bakterien ausgeführt werden. Dazu kommt noch die Hydrogenisierung des elementaren Schwefels und eine eventuelle ebenfalls bakterielle Abspaltung von im Eiweißmolekül präformierten H_2S-Gruppen. Der nur für wenige niedrige Organismen ausnützbare Schwefelwasserstoff wird in den Kreislauf des Schwefels wieder durch Bakterien eingeführt, die eine Reihe von Oxydationen auslösen. Die echten Schwefelbakterien sind dabei am meisten beteiligt und liefern reichlich unter Aufbrauch von H_2S Schwefelsäure, die sich zu Salzen umsetzt und der höheren Pflanze als Schwefelquelle dient. Schwefelsäure bilden dann noch die Thionsäurebakterien und Thiobacillus denitrificans Beijerinck, wenn auch hier das Ausgangsmaterial nicht H_2S ist.

T. Eisenbakterien.

Die in ihren Scheiden Eisen speichernden Fadenbakterien, die man in der physiologischen Gruppe der Eisenbakterien vereinigt, spielen in der Natur und in der Praxis eine mitunter sehr wesentliche Rolle. In der Natur haben sie gewiß bei der Entstehung der Sumpf- und Raseneerze ihren Anteil, wenn sie auch sicherlich dafür nur selten in Betracht kommen. Andererseits treten sie in zahlreichen Betrieben, die mit Wasser arbeiten, störend auf, indem sie die Rostbildung in eisernen Wasserleitungsröhren sehr befördern und zu deren Verlegung Veranlassung geben und mitunter die Güte des Wassers durch ihre Eisenausscheidung ungünstig beeinflussen und es für manche Betriebe direkt unbrauchbar

machen. Auch bei den in Flaschen abgezogenen eisenhaltigen Mineralwässern beschleunigen sie den Ausfall des Eisens, was natürlich sehr unerwünscht ist.

Wir wollen uns zunächst über die Physiologie der Eisenbakterien kurz orientieren. Nach den gelungenen Reinkulturen einiger Eisenbakterien durch Molisch haben wir jetzt einen besse-Einblick in ihre Ernährungsansprüche und Lebensweise. Im allgemeinen sind die Eisenbakterien keine anspruchsvollen Organismen, können aber nach den neueren Untersuchungen ohne organische Substanzen als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle nicht gedeihen, wohl aber ohne größere Eisen- und Manganmengen. Es scheint, daß die Eisenspeicherung nicht einen lebenswichtigen Vorgang darstellt, wie man früher meinte. Molisch konnte in Reinkulturen Leptothrix ochracea mit farblosen Scheiden züchten, die keine Eisenreaktion gaben, wenn er als Nährmaterial eine 1—2proz. Peptonlösung in destilliertem Wasser verwendete. Gewiß war dieses Peptonwasser, in dem die genannte Art üppig gedieh, nicht frei von jeden Eisenspuren. Es war aber sicher keine so große Menge vorhanden, daß es zu einer Speicherung kommt. Die Scheiden der Eisenbakterien nehmen nun gierig Eisenoxydul auf, das bei Sauerstoffmangel nicht weiter oxydiert wird, weshalb die Fäden dann auch nach der Speicherung des Oxyduls weiß sind. Erst bei Zutritt des Luftsauerstoffes findet die weitere Oxydation des Oxyduls zu Oxyd statt und die Scheiden werden dadurch braun. Nach Molisch haben wir in dieser Eisenspeicherung keine unmittelbare Plasma- oder Zelltätigkeit zu erblicken. Nur die Bildung der Scheide, also der Gallertmasse, ist als solche zu betrachten und höchstens die dauernde Erhaltung des physikalisch-chemischen Zustandes derselben, der es ermöglicht, immer größere Eisenmassen aufzunehmen. Es tritt nach dieser Anschauung das in der Flüssigkeit gelöst vorhandene Eisenoxydul in die Scheide ein und vielleicht auch in die Zellen vor, wird in den Scheiden festgelegt und schließlich von dem von außen her zutretenden Sauerstoff zum braunen Eisenoxyd weiteroxydiert. Diese Anschauung weicht von derjenigen Winogradsky's über die Eisenspeicherung sehr wesentlich ab, denn nach letzterer sollte das Eisenoxydul in die Zelle eintreten, im Zellplasma oxydiert und dann erst als Oxyd in die Scheide abgegeben werden.

An Stelle der Eisenspeicherung kommt es bei der Darreichung von Mangan zur Manganablagerung in den Scheiden der Eisenbakterien. Dabei häuft sich Manganohydroxyd an, das wieder durch den Luftsauerstoff wahrscheinlich in manganige Säure und Manganite oxydiert wird.

Nach diesen neuen Untersuchungen verliert die Anschauung von dem Wert der gespeicherten Eisenmengen für diese Scheidenbakterien sehr wesentlich. Bei der Anwesenheit größerer gelöster Eisenquantitäten in der Kultur werden die Fäden allerdings länger und die Scheiden beträchtlich dicker, absolut notwendig für den Zellbestand ist dies aber keinesfalls. Diese Eisenvorliebe dieser Organismen scheint eine mehr nebensächliche Begleiterscheinung im Leben derselben zu sein.

In der freien Natur trifft man die Eisenbakterien meist dort, wo eisenhaltiges und organisch verunreinigtes Wasser sich frei an der Luft befindet. Es fällen dann die braunen Schichten am Grunde des seichten, mäßig bewegten Wassers auf, die ganz aus diesen Organismen bestehen. Weiter siedeln sich die Eisenbakterien auch in Wasserleitungsröhren und in Brunnen an, wenn das Wasser stärker eisenhaltig ist. Dies gilt natürlich besonders für die Eisenquellen. Sowohl das Brunnenwasser als auch dasjenige der Eisenquellen enthält immer größere Mengen organischer Substanz, wenn sich diese Organismen darin üppig ansiedeln. Beim gewöhnlichen Brunnenwasser macht man meist die Beobachtung, daß dann Eisenbakterien plötzlich in größerer Menge auftauchen, wenn der Brunnen aus irgendeinem Grunde verunreinigende Zuflüsse aus der Umgegend erhält.

Im Laufe der Zeit wurden zahlreiche eisenspeichernde Bakterien bekannt, von denen Chlamydothrix ochracea, Chlamydothrix sideropous Molisch, Chlamydothrix ferruginea, Clonothrix fusca Schorler, dann Crenothrix polyspora und Cladothrix dichotoma wohl die verbreitetsten sind.

Chlamydothrix ochracea, auch Leptothrix ochracea genannt, bildet dick umscheidete gleich breite Zellfäden, an denen kein Unterschied zwischen Basis und Spitze zu bemerken ist. Verzweigungen der Zellen fehlen. Die ovalen Konidien setzen sich oft an den älteren Fäden fest und wachsen zu neuen Strängen aus, wodurch Verzweigungen häufig vorgetäuscht werden. In Figur 22 auf Seite 40 ist ein Stück eines dick bescheideten Zellfadens von Chlamydothrix ochracea mit eingelagertem Eisenoxydhydrat abgebildet.

Chlamydothrix sideropous Molisch ist eine besonders an Blättern verschiedener Wasserpflanzen festsitzende Eisenbakterie, die eine besondere Haftscheibe ausbildet, in der vor allem Eisen gespeichert wird. In *D* der Figur 147 ist dieselbe abgebildet. Wir sehen hier die Haftscheibe entweder von der Seite als vorspringende Platte, die in der Zeichnung dunkel gehalten, in Wirklichkeit aber vom eingelagerten Eisenoxydhydrat rotbraun gefärbt ist oder als runde Scheibe von vorne, aus deren Mitte der selbst ziemlich eisenarme Zellfaden hervorgewachsen ist. Er besitzt nur eine dünne Scheide, die in den der Haftscheibe zunächst liegenden Teilen ebenfalls reichlicher Eisen enthält.

Chlamydothrix ferruginea oder Gallionella ferruginea ist eine Eisenbakterie, deren Fäden verflochten sind und so Zöpfe bilden, die oft mit dichten und massigen Eisenoxydhydratinkrustationen eingehüllt sind. Wir sehen davon eine Abbildung in Figur 147 bei *A*. Die Fäden verlaufen auch oft einzeln geschlängelt oder sind sehr dicht spiralig gedreht. Sie besitzen auch keine besonders ausgebildete Scheide. Gallionella ist ein häufiger Bewohner eisenhaltigen Wassers. Das Spirophyllum Ellis, ebenfalls in Figur 147 in *B* und *C* abgebildet, hat mit der Gallionella große Ähnlichkeit und unterscheidet sich von ihr nur dadurch, daß die Fäden bandartig, also breitgedrückt sind, während Gallionella drehrunde Fäden besitzt. Nodofolium Ellis ist eine ähnliche Art.

Clonothrix fusca Schorler wurde in Wasserleitungen gefunden und bildet lange, pseudodichotomisch verästelte Fäden, an denen eine breitere Basis und schmälere Spitze zu unterscheiden ist. Der Faden

setzt sich aus längeren einzelnen Zellen zusammen, die von einer mäßig dicken, hellgelben bis braunen Scheide zusammengehalten werden. Die Farbe wechselt mit dem Eisengehalt.

Crenothrix polyspora, der gemeine Brunnenfaden, ist wohl die verbreitetste Eisenbakterienart, die durch ihre massenhaften Wucherungen Wasserleitungen sehr arg zu gefährden vermag. In Figur 41 auf Seite 63 sehen wir diese Art mit ihren Konidien abgebildet. Sie speichert nur wenig Eisen in den mäßig dicken Scheiden der älteren Zellen und setzt sich sehr gerne an Bröckelchen von Eisenoxydhydrat an.

Cladothrix dichotoma, von der ein Fadenstück mit den Schwärmkonidien in der Figur 41 auf Seite 63 wiedergegeben ist, hat ebenfalls eine weitere Verbreitung. Die falschverzweigten Fäden siedeln sich auf Steinchen und anderen Unterlagen im Wasser an. Die relativ dicke Scheide speichert aber nur wenig Eisen.

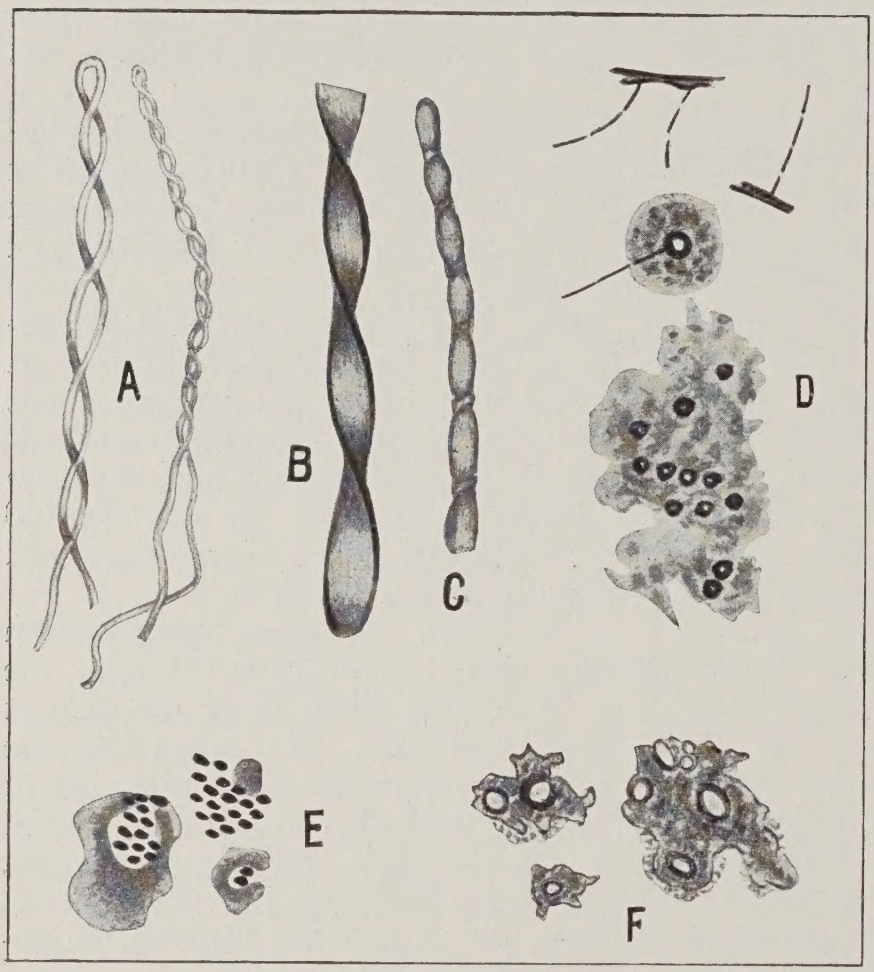


Fig. 147.

Molisch hat uns noch mit zwei anderen Eisenbakterien bekannt gemacht, die aber nicht zu den Scheidenbakterien gehören. Sie scheiden eine Gallerte ab, in die Eisenhydrat in großer Menge abgelagert wird. Diese Gallertflocken überziehen Wasserpflanzen in weiter Ausdehnung, so daß dieselben eine dunkelrotbraune Farbe bekommen und nur stellenweise grüne Teile durchschimmern, wenn ein Blatt davon besetzt ist.

Die eine Art ist Siderocapsa Treubii Molisch, die in *F* der Figur 147 abgebildet ist. Die einzelnen, vom Eisenoxydhydrat durchsetzten Gallertkrusten haben einen Durchmesser von 5—18 μ und treten zu größeren Auflagerungen zusammen. In den mittleren Teilen der Gallertkapsel beobachtete man einen meist elliptischen, hellen Hof, in dem Kugelbakterien von 0,4—0,6 μ Durchmesser liegen. Über sechs Bakterien in einer Kapsel sind selten zu finden.

Die zweite Art ist ein kurzes Stäbchenbakterium, die Siderocapsa major Molisch, die ebenfalls in Figur 147 bei *E* gezeichnet ist. Die größeren 0,7—1,8 μ messenden Bakterien liegen in größerer Anzahl

in einer weniger scharf begrenzten Gallertmasse, die von Eisenoxydhydrat durchsetzt ist.

Schon bei der Besprechung der Standorte der Eisenbakterien haben wir gehört, daß sich dieselben häufig in eisernen Wasserleitungsröhren ansiedeln und dort zu ausgiebiger Rostbildung und zu Verstopfungen Veranlassung geben. Diese Rostbildungen nehmen dabei in blanken Röhren von einzelnen Flecken ihren Ausgang, an denen sich die Eisenbakterien angesiedelt haben. Die Ansammlungen vergrößern sich in der Folge und treten dann zusammen, so daß es bei engen Rohren zu einem vollkommenen Verschluß kommen kann. Dabei sind hauptsächlich die früher kurz beschriebenen Chlamydothrixarten, Crenothrix und Clonothrix beteiligt. Allerdings sind die Eisenbakterien nicht die alleinige Ursache der genannten Rostbildungen, die bei organisch nur minimal verunreinigtem Wasser auf rein chemische Vorgänge zurückzuführen sind. Dieselben spielen aber auch dort eine bedeutsame Rolle, wo für eine Eisenbakterienflora günstige Verhältnisse durch vorhandene organische Beimengungen herrschen. Deshalb sind alle diese unliebsamen Rostbildungen im zweiten Falle auf zwei Ursachen zurückzuführen. Die chemische Rostbildung wird durch die Eisenbakterien eben mächtig gefördert und die Ablagerungen durch sie auf bestimmte Bezirke konzentriert, was natürlich die Gefahr eines störenden Rohrverschlusses mächtig erhöht.

Die Eisenbakterien stehen aber auch mit **Rasenerzbildungen** in ursächlichem Zusammenhang, wenn dies auch nur in einzelnen Fällen zutrifft, wie die Untersuchungen Molisch's und anderer dargetan haben. Allerdings ist dabei noch zu bedenken, daß im Laufe der Zeit selbst in den durch Bakterien gebildeten Rasenerzen die Scheiden derselben längst derartige Veränderungen erlitten haben, die einen Nachweis derselben im Erz unmöglich machen. Trotzdem ist die Bildung von Rasenerzen ohne Zutun von Eisenbakterien ebensogut möglich und geschieht auch heute noch in der Natur, wie zahlreiche Fälle es beweisen. Demnach müssen wir uns eine Entstehung von Sumpf-, Rasen- und Quellerzen so denken, daß dieselbe meist auf rein physikalisch-chemischem Wege vor sich geht und nur in seltenen Fällen durch Eisenbakterien, insonderheit Chlamydothrix ochracea und Chlamydothrix ferruginea herbeigeführt wird. Die beiden letztgenannten Arten konnten in verschiedenen Rasenerzen in enormer Menge nachgewiesen werden, so daß sie mit Recht mit der Entstehung dieser bakterienreichen Erze in Verbindung gebracht werden dürfen.

Wie wir oben schon gehört haben, sind die natürlichen, eisenreichen Mineralwässer ebenfalls Fundstätten für Eisenbakterien. Dies gilt besonders für die ausgesprochenen medizinischen Eisenwässer. Daß in solchen Wässern schon in kurzer Zeit der größte Teil des gelösten Eisens als Eisenoxydhydrat ausfällt, wodurch eine Entwertung derselben eintritt, ist ebenso bekannt. Es darf natürlich nicht wundernehmen, daß das als Ferrokarbonat bei überschüssigem Kohlensäuregehalt in Lösung befindliche Eisen beim Zutritt der Luft oxydiert wird und als Eisenoxydhydrat ausfällt. In der richtigen Erkenntnis der Sachlage

bemüht man sich auch beim Abfüllen der Eisenwässer, die immer auch reich an Kohlensäure sind, ein Entweichen derselben möglichst hintanzuhalten und für guten Verschluß der Flasche zu sorgen. Trotzdem treten die Fällungen meist innerhalb kurzer Zeit ein. Neuere Untersuchungen haben nun ergeben, daß mit einem spontanen Ausfallen des Eisens immer gerechnet werden muß, daß dasselbe aber durch Eisenbakterien wesentlich beschleunigt wird. Meist spielen dabei Chlamydothrix ferruginea und auch Chlamydothrix ochracea eine Rolle, während andere Scheidenbakterien nur in seltenen Fällen zur Beobachtung gelangen. Beweisend für diesen Schluß waren Sterilisations- und Desinfektionsversuche von Eisenwässern, die ergaben, daß die Haltbarkeit derselben durch Ausschaltung der in Rede stehenden Mikroorganismen bedeutend verlängert worden war.

Das Vermögen der Eisenspeicherung finden wir noch bei zahlreichen anderen, nicht pilzlichen, niederen Organismen, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll. Bei entsprechenden Spezialversuchen werden sich sicherlich auch Fadenpilze und noch höhere Pilze als zur Eisenspeicherung befähigt erweisen, wenn auch darüber vorläufig eingehendere Angaben noch nicht vorliegen.

V. Abschnitt.

Umsetzungen durch Bakterien und Hefen.

Bei den bisher betrachteten Umsetzungen haben verschiedene Bakterienarten sozusagen die Hauptrolle gespielt, während Hefen und Schimmelpilze in der Regel nur nebenbei tätig waren. Bei den nun weiter zu behandelnden technisch wichtigen mykologischen Prozessen sind sowohl Bakterien als auch Hefen gleich wichtig, so daß man mit vollem Recht von kombinierten Gärungsvorgängen sprechen kann. Im allgemeinen finden wir solche überall dort, wo neben Alkohol auch gewisse Mengen bestimmter Säuren erzeugt werden sollen. In diesen Fällen kommt den Hefen die Aufgabe der Alkoholbildung und den Bakterien diejenige der Säureerzeugung zu. Es sind wohl Fälle bekannt geworden, bei denen auch Bakterien Alkohol zu bilden vermögen, doch ist die durch sie erzeugte Menge Alkohols gegenüber derjenigen durch die Hefe gebildeten Quantitäten verschwindend klein. Die rein bakterielle Alkoholbildung kann bei den technisch wichtigen Umsetzungen als bedeutungslos bezeichnet werden.

A. Einsäuerung der Gemüse.

Wir haben schon eine Reihe von Prozessen zur Haltbarmachung von Futtermitteln kennen gelernt, bei denen sich reichlich bakterielle Vorgänge abspielen. Es sei hier an das Grünpreß- und Sauerfutter erinnert. Ähnliche Erscheinungen stellen sich auch bei der Konservierungvon Gemüsen durch Einsäuern ein. Auf diese Art werden Gemüsekonserven erzeugt, die unter dem Namen Sauerkraut, Stschikraut, Komstkraut, saure Bohnen, Gurken, Erbsen, Tomaten, Äpfel usw. bekannt sind.

Bei der Herstellung dieser Gruppe von Gemüsekonserven kann man im allgemeinen drei sich ablösende Gärungsprozesse unterscheiden. Unmittelbar nach dem Einmachen oder Einlegen der ganzen oder zerkleinerten, rohen oder gebrühten, gesalzenen oder ungesalzenen und endlich mit oder ohne Wasserzusatz angestellten Gemüse setzt die Vorgärung ein. Diese läuft innerhalb weniger Tage ab. An sie schließt sich die Hauptgärung, die im besonderen durch eine Milchsäuregärung und in der Regel auch, wie schon die Vorgärung, durch eine mehr oder minder ausgesprochene alko-

holische Gärung charakterisiert ist. Den bei der Hauptgärung entstehenden Gärprodukten (Milchsäure und nebenbei Alkohol) verdanken diese Konserven ihre relativ lange Haltbarkeit, sofern man für einen hinreichenden Luftabschluß sorgt. Die von vornherein vorhandene Mikrobenflora erleidet ganz besonders durch die Milchsäurebildung eine beträchtliche Einschränkung, denn die Hauptgärung überdauern nur die widerstandsfähigen Formen der Mikroben, hauptsächlich die Sporen.

Nach einer längeren oder kürzeren Zeit beginnt nun die Nachgärung, bei der ein Wiederaufleben zahlreicher Mikroorganismen zu verzeichnen ist, durch deren Tätigkeit eine Abnahme der Säuremengen und in der Folge sogar eine alkalische Reaktion der nunmehr schon stark angegriffenen Gemüsekonserve zu verzeichnen ist. Die hier auftretenden Zersetzungen betreffen in erster Linie die noch erhaltenen Pektin- und Zellulosekörper und Eiweißstoffe.

1. Sauerkraut.

Eine weitverbreitete Gemüsekonserve ist das Sauerkraut. Es wird entweder im Großen fabriksmäßig hergestellt oder auch im Hause für den eigenen Bedarf. Beim Fabriksbetrieb werden von den eingelieferten Weißkohlköpfen die äußeren grünen Blätter entfernt, ebenso die Strunkenden und etwa vorhandene schadhafte Stellen. Dann werden die Krautköpfe fein geschnitzelt und die Schnitzel mit gewöhnlichem Kochsalz eingesalzen. Das Zerschneiden und Einsalzen geschieht meist durch besondere Maschinen, während die Zurichtung der Köpfe manuell ausgeführt wird. Die mit Salz gemengten Schnitzel kommen nun in große eichene Gärbottiche von 1—2 m Höhe und 2 m Breite. Vielfach werden auch große Betongefäße zur Gärung verwendet. Jede eingebrachte Lage von Schnitzeln wird von Arbeitern, die mit entsprechenden Holzschuhen bekleidet sind, möglichst lückenlos und luftfrei festgestampft. Sobald die feingeschnittenen und gesalzenen Krautmassen bis oben in den Bottich festgeschichtet sind, werden sie mit einem Deckel zugedeckt und sofort mit schweren Steinen beschwert. Wenige Stunden nachher hat sich die Masse unter starker Flüssigkeitsabgabe gesetzt und der ausgetretene Saft bedeckt den Deckel. Jetzt setzen schon die ersten Gärungserscheinungen ein, die sich durch ein Aufsteigen von Gasblasen aus der ausgepreßten Flüssigkeit verraten.

Es findet also zuerst eine ausgiebige Brühenbildung statt, dann eine Gärung derselben unter Schäumen, schließlich die Säuerung und die Kahmbildung auf der Brühe.

Da bei der Sauerkrautbereitung ohne Zugaben von Flüssigkeiten gearbeitet wird, stammt die gesamte Brühe aus den Zellen des Weißkohles. Das Einsalzen hat nun den Zweck, die Brühenbildung, also den Austritt des Zellsaftes zu beschleunigen. Derselbe kann auch durch Abtöten der Zellen in der Wärme um 50° C oder durch Gefrieren herbeigeführt werden, wovon man aber in der großen Praxis kaum einen Gebrauch macht. Andere zu diesem Zwecke angewendete Salze haben sich als weniger geeignet erwiesen. Übrigens wird durch die übliche Kochsalzzugabe, deren Menge in Maximum 2% ausmacht, die Zusammensetzung der sich schließlich einstellenden Mikrobenflora kaum nennens-

wert beeinflußt. Die rasche und ausgiebige Brühenbildung in dem Maße, daß die ganze Oberfläche reichlich bedeckt ist, muß als unumgänglich notwendig angesehen werden, weil dadurch ein vollständiger Luftabschluß in der kürzesten Zeit erreicht wird, der für eine gut verlaufende Krautgärung unerläßlich ist.

Die Mikrobenflora der Sauerkrautbrühe während der Vor- und Hauptgärung, die gewöhnlich in 3—4 Wochen abläuft, besteht vornehmlich aus Hefen, Mykodermen und Bakterien. Die Gasbildung während der Vorgärung geht auf eine durch die Hefen veranlaßte alkoholische Gärung zurück. In der Tat enthält die Sauerkrautbrühe 0,5—1% Äthylalkohol. Nach Wehmers Untersuchungen sind an der Gärung vornehmlich drei Saccharomyzeten beteiligt, die sich schon durch die äußere Gestalt unterscheiden. In der Figur 148 sind die Sproßzellen *III*, *IV* und *V* bei etwa 2000facher Vergrößerung nach den Zeichnungen Wehmers abgebildet. Saccharomyces Brassicae I (*III* der Figur 148) ist eine kugelig-längliche, kleinere Hefe von untergärigem Typus. Die Zellen bilden grauweiße, am Boden festanliegende Massen. Saccharomyces Brassicae II (*IV* der Figur 148) ist eine untergärige kugelige Hefe, während Saccharomyces Brassicae III (*V* der Figur 148) ellipsoidische, länger gestreckte Zellen aufweist, die ebenfalls in der Tiefe der Flüssigkeit vegetieren.

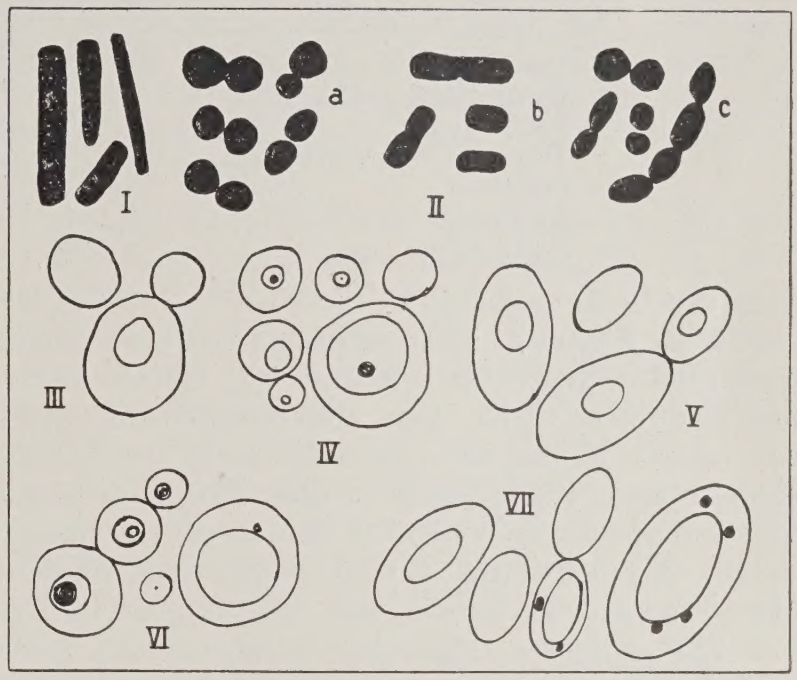


Fig. 148.

An Bakterienarten ist die Brühe sehr reich, von denen aber nur die Milchsäurebildner eine Bedeutung besitzen. Nach Wehmer sollen zwei in erster Linie in Frage kommen. Bacterium Brassicae, eine Milchsäurebakterie, bildet kein Gas und ist ziemlich variabel in seiner Form. *II a, b* und *c* der Figur 148 gibt es wieder. *A* entspricht den Formen in einer älteren Krautsaftagarkultur, *b* derjenigen in junger Kohlsaftzucht und endlich *c* denjenigen in einer älteren Kohlsaft-Dextrosekultur. Es bildet viel Säuren, bis zu 0,9% und darüber. Wehmer isolierte noch eine zweite säurebildende Bakterienart, die lange, schlanke Stäbchen aufweist, wie es *I* der genannten Figur wiedergibt. Ihr scheint wegen des geringen Säuerungsvermögens jede praktische Bedeutung zu fehlen. Nach anderen Untersuchern sind an der Sauerkrautgärung gasbildende Milchsäurebakterien, wie Bacterium brassicae acidae Lehmann et Conrad, Bacillus opacus Weiß und Bacillus brassicae fermentatae Henneberg beteiligt.

Die Gärstoffe für die genannten Bakterienarten und Hefen liefern die Pflanzenteile selbst und ihre mit dem Zellsaft herausgelösten Bestandteile. An gasförmigen Gärprodukten beobachtet man besonders Kohlendioxyd, wenig Wasserstoff und Methan. Außerdem wird viel Alkohol, Milchsäure und dann noch eine Reihe flüchtiger und nichtflüchtiger Säuren erzeugt, deren Menge und Art nach der Mikroorganismenflora und der Gärführung schwankt.

Die Veränderungen, die das Sauerkraut bei seiner Bereitung erfährt, sind aus der kleinen Tabelle ersichtlich, die Zahlen nach den Untersuchungen Conrads enthält.

Gehalt an	im Handelssauerkraut	in frischem Weißkohl
Wasser	92,60 %	91,1 %
Gesamtstickstoff	0,11 %	0,24 %
Fett	0,74 %	0,10 %
Dextrose + Invertzucker	2,00 %	4 23 %
Zellulose	1,49 %	1,15 %
Asche	1,22 %	0,80 %
Freie Säure	1,26 %	0,00 %

Der Säuregehalt des Handelskrautes ist sehr schwankend und dürfte zwischen 0,2 und 1% Milchsäure schwanken. Je älter das Kraut schon ist, bzw. die Krautbrühe, um so weniger Säure enthält es, da die Mykodermen, die sich besonders bei der Nachgärung ansiedeln und die Kahmhaut der Brühe ausmachen, intensiv Milchsäure verzehren. Nach Wehmer finden sich besonders zwei Arten von Kahmhefen, Mycoderma I oder weiße Kahmhefe (*VI* der Figur 148) und Mycoderma II oder graue Kahmhefe (*VII* der Figur 148).

Bei großen technischen Betrieben, wo kollossale Massen von Kraut in sehr großen Gärbottichen eingepreßt werden, kommt es anfangs meist zu einer gelinden Selbsterwärmung, die aber infolge des ungenügenden Luftzutrittes nie zu besonders hohen Temperaturen führt.

Annähernd gleich verläuft die Sauerkrautgärung auch im Klein- und Hausbetriebe, wo es natürlich wegen der geringen Massen niemals zu einer Erwärmung kommen kann.

Im Anschluß an das Sauerkraut ist noch das Komst- und Stschikraut zu erwähnen; beide Arten werden nur im Hause bereitet, letztere ausschließlich in Rußland.

Bei der Komstkrautbereitung werden die gereinigten ganzen Krautköpfe kurze Zeit in kochendes Salzwasser eingetaucht und einigemal darin aufgekocht. Nach dem Abtropfen kommen sie ganz oder geviertelt in Fässer oder Töpfe, werden mit kaltem Salzwasser überschichtet, beschwert und der Gärung überantwortet.

Beim Stschikraut wird ein Gemisch von feingeschnittenem Kraut, Möhrenscheiben, Äpfeln und Preißelbeeren mit Salz und Kümmel in Fässern eingelegt und mit Salzwasser überschichtet. Durch 14 Tage wird nun täglich mit einem Stock in die Gärmasse ein Loch gebohrt und dann erst beschwert und zu Ende vergoren.

2. Säuerung von Gurken.

Auch die Säuerung von Gurken verläuft derjenigen des Krautes ähnlich. Zum Einsäuern benützt man die noch nicht ausgereiften Gurkenfrüchte in dem Stadium der Reife, welches den größten Zuckergehalt aufweist. Dieselben kommen in Gläser oder Fässer unter Zugabe von verschiedenen Gewürzen. Dann übergießt man dieselben mit einer 4—6proz. Kochsalzlösung oder auch reinem Wasser soweit, daß sie davon vollständig bedeckt sind, da die herausstehenden Teile in der kürzesten Zeit verdorben werden. Durch eingesetzte federnde Holzspangen werden die Gurken am Emporschwimmen gehindert. Die Gärung geschieht bei 25—35° C. Unter diesen Umständen setzt sie meist in den ersten 48 Stunden unter Schaumbildung ein, während das Maximum der Säuerung nach etwa 2—3 Wochen erreicht ist. Mittlerweile hat sich die Oberfläche der Flüssigkeit mit einer Kahmdecke überzogen. Sobald die fertigen Sauergurken noch länger in höherer Temperatur verbleiben oder zu ihnen Luft Zutritt hat, nimmt die Säuremenge rasch ab und die Konserve verdirbt.

Man hat nun aus der Brühe der sauren Gurken eine Reihe von Mikroorganismen gezüchtet, von denen die einen eher als schädliche Begleitbakterien angesehen werden müssen, während die anderen die Säuerung veranlassen und durch die gebildete Milchsäure die ersteren größtenteils ausschalten. Dementsprechend trifft man die Begleitbakterien hauptsächlich in der Vorgärung. Es handelt sich meist um gut bewegliche Stäbchenbakterien, Bacillus coli, Bacillus fluorescens liquefaciens und non liquefaciens, Bacillus megatherium, Bacillus subtilis u. a., wie Aderhold dartun konnte. Für die Schaumbildung bei der Vorgärung scheint gerade der Colibazillus aufzukommen und nicht Saccharomyzeten und Torulazeen, wie wir es bei der Sauerkrautgärung kennen gelernt haben. Später bei der Hauptgärung beherrschen verschiedene Milchsäurebakterien das Feld, von denen hier genannt seien: Bacterium Güntheri var. inactiva Aderhold, Bacillus ventricosus Weiß, Bacillus cucumeris fermentati Henneberg, Bacillus Aderholdi Henneberg, Micrococcus tener Weiß und Pediococcus acidi lactici Henneberg. Haupterreger der Milchsäuregärung bei der Gurkensäuerung sind jedenfalls nicht bewegliche Stäbchenbakterien, die entweder solitär bleiben oder auch eine Neigung zur Bildung von Ketten aufweisen, kürzere und längere Formen besitzen, keine Sporen erzeugen, Dextrose, Galaktose und Laktose vergären und Gelatine bei ihrem Wachstum nicht verflüssigen, wie diese Gruppe auch Aderhold kennzeichnet.

Die fertigen gesäuerten Gurken zeigen wesentliche Veränderungen in der Konsistenz und im Aussehen der Schnittflächen gegenüber den unreifen frischen Gurken. Das Fruchtfleisch ist weicher und zeigt eine mehr durchsichtige glasige Beschaffenheit. Diese Veränderung soll in erster Linie auf Bacillus coli zurückgehen. Die Brühe enthält nun nach der Hauptgärung meist 0,5—0,8% Säure, als Milchsäure angenommen. In qualitativer Hinsicht besteht die Säure vornehmlich aus razemischer Milchsäure, während Essigsäure und

Bernsteinsäure nur in Spuren vorhanden sind. Meist findet man auch geringe Mengen von Äthylalkohol.

Analysenergebnisse, aus denen die Veränderungen der Gurkensubstanz bei dem Einsäuern deutlich zu entnehmen sind, hat Aderhold geliefert. Dieselben sind in der folgenden kleinen Tabelle nach dem genannten Autor wiedergegeben[1]).

Gehalt in Prozenten an	Frische Gurken	Saure Gurken		
		Säuerung im Faß	Offene Säuerung: aus demselben Gefäß	
			Früchte	
			größere	kleinere
Wasser	95,96	95,89	96,40	96,04
Trockensubtanz	4,04	4,11	3,60	3,96
Gesamtzucker	0,99	0,00	0,012	0,022
Traubenzucker	0,88	0,00	0,00	0,00
Rohrzucker	0,11	0,00	0,012	0,022
Stickstofffreie Extraktstoffe ohne Zucker	1,32	1,05	0,847	nicht bestimmt
Stickstoffhaltige Substanz	0,58	0,375	0,313	0,330
Fett	0,09	0,155	0,18	0,15
Holzfaser	0,68	0,35	0,45	nicht bestimmt
Asche nach Abzug des Kochsalzes	0,38	0,34	0,33	0,21
Kochsalz	—	1,65	1,27	1,29
Säure, auf Milchsäure berechnet	—	0,19	0,20	nicht bestimmt

In der auf die Hauptgärung folgenden Nachgärung schwindet die Milchsäure recht beträchtlich. Als Säurezehrer kommen neben dem Bacillus coli in erster Linie Mykodermen, Torulaarten, dann noch verschiedene Schimmelpilze, auch Oidium lactis u. a. in Betracht.

3. Säuerung von Erbsen, Tomaten und Äpfeln.

Enthülste grüne Erbsen und Tomaten werden in ähnlicher Weise eingesäuert wie die Gurkenfrüchte. Im wesentlichen dürfte es sich bei diesen Umsetzungen ebenfalls um Milchsäuregärungen handeln. Im übrigen liegen über diese Säuerungsprozesse keine eingehenderen mykologischen Untersuchungen vor.

In Rußland und Rumänien pflegt man häufig Äpfel durch Einsäuern zu konservieren. Zu dem Ende legt man die gebrühten Äpfel in eine 1—3proz. Kochsalzlösung, in der alsbald eine Gärung eintritt. Unter starker Schaumbildung, hervorgerufen durch eine alkoholische Gärung, findet dieselbe statt. Dabei entsteht rasch eine Alkoholmenge von etwa 1,5% und eine Säuremenge von etwa einem halben Prozent. Flüchtige Säuren scheinen nur in Spuren gebildet zu werden. Ältere Brühen enthalten ungefähr 2% Alkohol und 1,5% Säure, die etwa zur Hälfte aus flüchtigen Säuren, vornehmlich Essigsäure, bestand. Die saure Gärung besorgt Bacterium lactis aërogenes,

1) Nach Aderhold, Haltbarmachung von Gemüse und Tierfutter durch Einsäuern, in Lafar's Handbuch der techn. Mykologie, Bd. 2, Seite 326 zitiert.

während die alkoholische durch Hefen erregt wird. Daneben treten noch zahlreiche andere Bakterien und Pilze auf, die aber für die eigentlichen Umsetzungen nebensächlich sind und infolge Ansteigens des Milchsäuregehaltes als bald ausgeschaltet werden.

Auch die grünen Hülsen der Bohnen, die sogenannten Bohnenschoten, werden eingesäuert. Nach Entfernung der Fäden, also der an der Konkavität und Konvexität der Schote entlangziehenden Sklerenchymfaserbündel, werden die Schoten maschinell in kleine Stücke geschnitten und unter Zugabe von Kochsalz gebrüht oder roh in Glasgefäße gepreßt und beschwert. In der sich in kurzer Zeit ansammelnden Brühe entwickelt sich eine üppige und artenreiche Mikrobenflora, die neben einer alkoholischen Gärung und Milchsäuregärung meist auch eine Butter- und Essigsäuregärung hervorruft. Es wurden viele Bakterien aus den Bohnenbrühen isoliert, auf die näher einzugehen zu weit führen würde. Jedenfalls ist hier das zahlreichere Auftreten von Kugelbakterien neben den Stäbchenformen bemerkenswert.

B. Mehlteiggärung.

Wenn man Mehl mit Wasser anrührt und einfach bei Zimmertemperatur stehen läßt, so stellt sich in kurzer Zeit eine Gärung ein, die man als spontane **Mehlteiggärung** bezeichnet. Bei derselben sind Bakterien tätig, die den Teig kräftig säuern und gleichzeitig Gase entbinden. Von vornherein ist ja das Mehl niemals steril und mit dem zum Teig zugefügten Wasser gelangen ebenfalls zahlreiche Bakterien hinein. Daher zeigt sich im Mehlwassergemisch zu Beginn der Gärung auch eine artenreiche Flora, die aber in der Folge sehr reduziert wird. Der Bakteriengehalt des Mehles ist ja entsprechend der Herkunft und der Feinheit verschieden. Schon das Getreide ist sehr bakterienreich, denn nach den Angaben von Behrens enthielt ein Gramm deutschen Weizens 14—23000 Bakterien, während auf derselben Menge russischen Weizens 256—309000 nachgewiesen werden konnten. Russischer Roggen und Hafer ergaben in Millionen ausdrückbare Keimzahlen. Je vorsichtiger die Schale beim Mahlen vom Mehlkörper entfernt und je reiner und genauer die Trennung der Kleie vom Mehl durchgeführt wird, desto keimärmer ist das resultierende Mehl. Da nun das Roggenmehl immer gröber als das Weizenmehl erzeugt wird, ist letzteres im allgemeinen ärmer an Bakterien als ersteres, was auch diesbezügliche direkte Untersuchungen dargetan haben. Besonders Vertreter der Mesenterikus- oder Kartoffelbazillengruppe sind im Roggenmehl meist reichlich vertreten.

Da, wie schon oben angedeutet, die spontane Mehlteiggärung eine saure Gärung ist, bei der ziemlich reichlich Milchsäure produziert wird, werden dabei im wesentlichen doch nur verhältnismäßig wenige Bakterienarten beteiligt sein. Die diesbezüglichen Untersuchungen haben auch ergeben, daß es sich hier um eine reine Bakteriengärung handelt. Vornehmlich soll der Bacillus levans Wolffin, der in hohem Maße dem Bacillus coli nahesteht und sich von ihm nur durch das Verhältnis zwischen der gebildeten Kohlendioxyd- und

Wasserstoffmenge, durch die schnelle Bewegung und endlich durch seine Fähigkeit der Gelatinepeptonisierung unterscheidet, das Aufgehen des Mehlteiges besorgen, während Milchsäurebildner die Säuerung hervorrufen. Ein zweites Kurzstäbchen, das auf der Gelatineplatte unter Verflüssigung gelbe Kolonien bildet, fakultativ anaërob ist und Laktose und Dextrose unter kräftiger Gasbildung vergärt, ist ebenfalls am Steigen eines solchen Mehlteiges häufig beteiligt. Übrigens gelingt es auch, in sterilem Mehlteig mit dem Bacillus coli allein diese Erscheinungen hervorzubringen. Wenn auch echte Milchsäurebakterien fehlen, genügen die bei der Zuckervergärung durch den Bacillus levans entstehenden organischen Säuren, die übrige Flora am Wachstum zu hindern oder sie zu vernichten, womit gleichzeitig die Buttersäuregärung und Fäulnis der Kleberproteide ausgeschlossen wird. Denn von vornherein sind immer Buttersäurebakterien und deren Sporen und auch Fäulniserreger in beträchtlicher Menge vorhanden.

In der Praxis benützt man die reine Mehlteiggärung ohne weitere Zusätze allein höchst selten. So wird beispielsweise in Posen das sog. „Wasserbrot", ein Schrotbrot nur durch reine Mehlteiggärung vor dem Backen gelockert. Bei der Gärung des Nürnberger Lebkuchenteiges, der mit Honig, Mehl und Syrup unter Kaliumkarbonatzugabe und anderen Zusätzen angemacht wird und lange Zeit lagert und gärt, scheinen übrigens auch ausschließlich Bakterien beteiligt zu sein.

Zur Brotbereitung ist von alters her gebräuchlich die Verwendung des Sauerteiges, dessen Gärung eine gemischte ist. Trotz der auch hier reichlichen Mikrobenflora machen besonders zwei Prozesse die Sauerteiggärung aus. Der eine Vorgang ist eine saure Gärung, die auf Bakterien zurückgeht, während die Gasbildung und damit verbundene Lockerung des Teiges durch eine von Hefen ausgelöste alkoholische Gärung hervorgebracht wird. Das bei der Sauerteiggärung des Brotes gebildete Gas besteht ausschließlich aus Kohlensäure, womit eine Tätigkeit des früher genannten Bacillus levans ausgeschlossen erscheint, da wir hörten, daß durch ihn ein Gasgemisch gebildet wird, zusammengesetzt aus viel Kohlendioxyd und wenig Wasserstoff. Bei der Sauerteiggärung ist wohl mit Sicherheit anzunehmen, daß neben Hefen, besonders dem Saccharomyces minor, im Anfang zahlreiche Bakterien vorhanden sind, deren Zahl diejenige der Sproßpilze hoch übersteigt. Bei der Brotgärung mit dem Sauerteig, die gewöhnlich in etwas höherer Temperatur zwischen 20 und 35° C stattfindet, vermehren sich die Saccharomyzeten sehr rasch, während alle anderen Bakterienarten mit Ausnahme der Milchsäurebildner unterdrückt und zumindest am Wachstum gehindert werden. Die entstehende Milchsäuremenge fördert noch überdies wieder das Wachstum der Hefen. Von Milchsäurebakterien scheinen in erster Linie Vertreter des Bacillus acidificans longissimus Lafar die wichtigste Rolle zu spielen. Auch der Bacillus panis fermentati Henneberg, ebenfalls eine Milchsäurebakterie, findet sich häufig bei der Sauerteiggärung. Neben Milchsäure tritt als zweites Gärprodukt auch Essigsäure in den Vordergrund, deren Menge diejenige der Milchsäure meist erheblich übertrifft, soweit sich die Angaben auf Schwarzbrote beziehen. Butter-

und Ameisensäure entstehen nur in geringen Mengen. Übrigens hängt die Gesamtmenge der Säure wesentlich von der Gärdauer und der Temperatur ab. Sowohl die Alkoholmenge als auch die Quantität der flüchtigen Säuren erfährt durch das Backen des Brotes eine starke Reduktion. Außerdem ist beim Backen noch an einen Zusammentritt der flüchtigen Säuren und des Alkohols zu Estern zu denken. Ist ja gerade das mit Sauerteig hergestellte Brot durch einen angenehmen aromatischen Geruch ausgezeichnet. Allerdings könnte derselbe auch auf spezifische aromabildende Bakterien oder Hefen zurückgehen. Immerhin ist dies unwahrscheinlich, da man am fertig gegorenen ungebackenen Brotteig kaum einen Estergeruch wahrnimmt. Eine tiefere Zersetzung der Kleberproteide kommt bei der normalen Sauerteiggärung und Brotteiggärung nicht vor. Nur in sehr alten Sauerteigmassen finden ausgedehntere Zersetzungen der Eiweißstoffe statt, die schon einer echten Fäulnis nahekommen. Sonst dürfte die Spaltung der Proteide nur einen solchen Umfang annehmen, daß gerade der Stickstoffbedarf durch die dabei entstehenden Abbauprodukte gedeckt wird.

C. Durch Bakterien und Hefen vergorene Getränke.

Wir haben sowohl Bakterien als auch Hefen kennen gelernt, die aus verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln gewonnen wurden, in denen sie ganz bestimmte Umsetzungen hervorrufen. In vielen Fällen vermag aber eine einzige Art nicht alle diejenigen Veränderungen des ursprünglichen Substrates hervorzubringen, die das fertige Endprodukt charakterisieren. Unter diesen Umständen sind immer mehrere Arten von Mikroorganismen tätig, die nebeneinander arbeiten. In diesem Sinne werden viele Nahrungs- und Genußmittel durch gemischte Gärungen erzeugt. Dies gilt in ganz hervorragendem Maße für die zahlreichen, mehr oder weniger viel Alkohol enthaltenden Milchgetränke, von denen die meisten sog. Nationalgetränke sind und nur von bestimmten Völkerschaften in der ursprünglichen Form erzeugt werden. Mit ihnen wollen wir uns zunächst etwas eingehender beschäftigen.

1. Mazun.

Das Mazun ist ein solches, im asiatischen Westen heimisches, ziemlich saures und alkoholhaltiges Milchgetränk. In Armenien erzeugt man es in den Städten meist aus Kuhmilch, am Lande aber aus Ziegen- oder Büffelmilch. Es dient nicht nur pur oder mit Wasser verdünnt als Getränk im heißen Sommer, sondern auch als Gär- und Säurewecker beim Buttern und zur Bereitung von Mehlspeisen. Die geronnene Milch weist noch einen angenehmen aromatischen Geruch auf. Die Herstellung geschieht in der Weise, daß die aufgekochte Milch bis etwa 37° C abgekühlt und mit einem älteren Stück eingetrockneten Mazuns geimpft wird. Das Gefäß wird mit wärmeisolierenden Schichten aus Tuch umgeben, um den Inhalt warm zu erhalten. Nach etwa 12—18 Stunden ist das Mazun genußreif. In ihm findet sich eine reiche Flora von Bakterien und Hefen und meist auch Oidium lactis. Die Säuerung besorgen Laktobazillen, die wir schon früher kennen lernten, während die

allerdings schwache Alkoholbildung auf die Mazunhefe zurückgeht, unter der wir aber keine einheitliche Art verstehen dürfen. Man konnte neun verschiedene Hefearten reinzüchten, von denen drei Laktose zu vergären imstande sind. Eine Anomalusart ist wegen ihrer Fähigkeit, einen angenehmen Fruchtestergeruch zu erzeugen, interessant.

2. Yoghurt.

Ein anderes säuerliches Milchgetränk mit einem sehr geringen Alkoholgehalt von etwa 0,8% im Maximum ist der Ja-urt, Yoghurt oder auch Yaoërt der Bulgaren, Griechen und Türken. Derselbe stellt aufgeschüttelt eine mehr dickliche Flüssigkeit von stark saurem, aber angenehmem Geschmack vor. Man erzeugt den Yoghurt durch Verimpfen von mit Milch vermischtem alten Yoghurt in die gekochte und wieder auf 40—45° abgekühlte Milch, deren weiterer Abkühlung man durch die wärmeisolierenden Umhüllungen und Bedeckungen vorbeugt. Häufig engt man die Milch vor dem Impfen beim Kochen auch auf ihr halbes Volumen ein. Jetzt erhält man das Ferment dieser Sauermilch in Form gelbweißer Pulver oder Tabletten überall und kann sich bequem im Hause das Getränk bereiten. Die Gärdauer ist kurz und beträgt bei der angegebenen Temperatur 8—12 Stunden. Auch hier spielen Laktobazillen bei der milchsauren Gärung die einzige Rolle, dürfen aber für die Alkoholproduktion nicht verantwortlich gemacht werden, wiewohl dieses von einigen Seiten behauptet wird. Daneben finden sich noch peptonisierende Milchbakterien, die aber kaum eine Bedeutung besitzen und nur als Verunreinigung aufgefaßt werden können. Weiter findet man im natürlichen Yoghurt immer Hefen und Mykodermen, die aber auch nicht als notwendiger Bestandteil aufgefaßt werden müssen, sofern auf den Alkoholgehalt des Getränkes als normales Vorkommen verzichtet wird. Übrigens ist der Alkoholgehalt außerordentlich gering und erreicht nicht einmal $^1/_{10}$%, wie aus den untenstehenden Analysenergebnissen Fuhrmanns hervorgeht. Daraus ersieht man auch, in welchem Umfange die wichtigen Milchbestandteile bei der Yoghurtgärung unter Verwendung von Maya bulgaris als Ferment verändert werden.

Bestandteile	100 g der verwendeten sterilisierten Kuhmilch enthielten	100 g des mit Laktobazillen hergestellten Yoghurts enthielten	100 g des mit Maya (Paris) hergestellten Yoghurts enthielten
Kasein + Albumin	3,7290 g	3,6854 g	3,3380 g
Fett	3,1320 g	3,1210 g	3,0890 g
Milchzucker	4,8310 g	4,2210 g	3,8200 g
Nichtflüchtige Säuren, als Milchsäure berechn.	0,0937 g	0,5580 g	0,6201 g
Flüchtige Säuren, als Essigsäure berechnet	0	0,0174 g	0,0264 g
Fettfreie Trockensubstanz	9,6680 g	9,6870 g	10,1410 g
Alkohol	0	0	0,0890 g
Aldehyd	0	0	Spuren

In der ersten Kolonne ist die Zusammensetzung der zur Vergärung genommenen sterilisierten Kuhmilch angegeben. Die nächste Spalte gibt die Analysenwerte für einen Yoghurt, der hefenfrei durch 24 Stun-

den mit Laktobazillen vergoren wurde, während die letzte Spalte die Analysenzahlen des mit dem Mayaferment in derselben Zeit hergestellten Yoghurts enthält. Wir erkennen in beiden Fällen nur eine geringe Abnahme des Kasein- und Albumingehaltes und auch des Milchfettes, während die Laktose in größerem Umfange verschwindet. Der mit Maya hergestellte Yoghurt enthält mehr fixe Säure, mehr flüchtige Säure und eine geringe Menge Alkohol. Der vorhandenen Hefe kommt nur noch die Bildung eines etwas aromatischen Geschmackes in der Sauermilch zu.

Den beiden genannten Sauermilcharten steht das sizilianische Mezzoradu oder Gioddu sehr nahe und auch das ägyptische Leben. Zur Bereitung verwendet man ebenfalls gekochte und auf 40° abgekühlte Milch, die von dem alten Getränk verimpft und warm gehalten wird. Auch hier ist die Gärdauer nur kurz, denn sie beträgt etwa 6—10 Stunden. Auch diese Sauermilcharten enthalten vorwiegend Milchsäure neben wenig Alkohol, flüchtigen Säuren und etwas Estern, die dem Ganzen einen aromatischen Geruch verleihen. Die Flora ist auch sehr ähnlich und besteht aus Milchbakterien und Hefen, vielleicht auch Mykodermen.

3. Kefir.

Ein weiteres, aber alkoholreicheres Milchgetränk ist der Kefir, dessen Herstellung bei niederen, meist etwas unter 20° liegenden Temperaturen erfolgt. Erwünscht ist dabei neben dem hohen Alkoholgehalt noch ein Reichtum an Kohlensäure und eine sehr feinflockige Beschaffenheit des gefällten Kaseins, die man dadurch erreicht, daß man während der Gärung den Inhalt öfter durchschüttelt. Neben der Bezeichnung Kefir finden wir für dieses Getränk noch die Namen Kiaphir, Kehapu, Kepü und Chüppo. Nach den Angaben von Podwyssozki wird die Milch im Beginne der Säuerung auch Dschuurt genannt, dessen weitere Vergärung unter reichlicher Milchsäurebildung und Bildung von Kohlensäure und Essigsäure zum Airan führt, der von den Bewohnern des Kaukasus als außerordentlich saures Getränk genossen wird. Die Bereitung des Dschuurt geschieht in Tontöpfen oder eisernen Geschirren, während der Airan in Holzgefäßen oder Lederschläuchen vergoren wird. Nur der für den städtischen Vertrieb hergestellte Kefir wird in Flaschen bereitet. Zur Kefirgewinnung benützt man vielfach Kuhmilch, aber auch Schaf- und Ziegenmilch. Beim Impfmaterial geht man im Heimatlande des Kefir vom oben genannten Airan aus, der ursprünglich so hergestellt wird, daß Ziegenmilch in ein Gefäß von Eichenholz und hinein ein Stück Kalbs- oder Hammelmagen gegeben wird. Der vergorene Airan wird abgezogen und in der Folge immer wieder Milch nachgegossen. Am Boden und an den Wänden des Gärgefäßes bilden sich dabei schleimige Klümpchen, die getrocknet werden und dann das Impfmaterial für den Kefir, die Kefirkörner, abgeben. Dieselben werden von den Muhammedanern als „Hirse des Propheten“ bezeichnet und als göttliches Geschenk aufgefaßt, das der Legende entsprechend Hirten des Kaukasus im Gebüsch aufgefunden haben sollen. Die Kefirkörner findet man auch als „Gribki“ bezeichnet. In Figur 149 sehen wir dieselben von *a—c* in trockenem und *d—f* in gequollenem Zustande in natürlicher Größe nach Kern abgebildet.

Im Mutterlande bereitet man den Kefir aus den Körnern in der Weise, daß man die frische oder abgekochte Milch der Kuh oder Ziege in Ziegenlederschläuche einfüllt, mit den Kefirkörnern beimpft und gut verschließt. So bleiben sie an einem kühlen Ort einige Tage stehen.

Bei der Herstellung des Kefirs in Flaschen unter Verwendung der trockenen Kefirkörner verfährt man nach Biel folgendermaßen: Die Körner werden zuerst in lauwarmem Wasser zur Quellung gebracht und darin gereinigt. Dann reaktiviert man sie durch Einbringen in frische Milch, die täglich gewechselt wird. Sobald sie während der Gärung an die Oberfläche zu steigen beginnen, was etwa nach achttägiger Behandlung einzutreten pflegt , sind sie zum Kefiransatz brauchbar. Jetzt werden sie in das etwa dreifache Milchvolumen gebracht und die Gärung in offenen, nur mit wenig Watte oder Gazestoff bedeckten Flaschen unter häufiger Bewegung vollzogen. Dieselbe soll bei 15—18° C ca.

Fig. 149.

8—12 Stunden dauern. Dann zieht man die angegorene Milch in andere Flachen mit einem starken Verschluß ab, verdünnt sie event. mit dem gleichen bis doppelten Volumen gekochter und wieder abgekühlter Milch und läßt nachgären, während die zurückgebliebenen gequollenen Körner nach kurzer Waschung zu einem neuerlichen Ansatz dienen. Für die Nachgärung hält man die Flaschen bei oder etwas unter 15° C und erhält so nach einem Tag schwachen, nach zwei Tagen mittelstarken und schließlich nach drei Tagen starken, zum Genusse fertigen Kefir. Allwöchentlich einmal müssen die im Betrieb stehenden Kefirkörner einer gründlichen Reinigung unterzogen werden, die darin besteht, daß man dieselben mit Wasser wäscht und auf zwei Stunden unter öfterem Umrühren in eine 1proz. Sodalösung einträgt. Mitunter nehmen einzelne gequollene Kröner eine schleimige Beschaffenheit an und werden dann durchsichtiger. Auch erscheinen sie blasig aufgetrieben. Jedenfalls handelt es sich um eine Fremdinfektion, die sorgfältig vermieden werden muß. Vor allem entfernt man alle irgendwie verändert aussehenden oder sich schleimig anfühlenden Teile. Zur Unterdrückung der fremden Mikroorganismen erwies sich auch eine 0,02proz. Salizylsäurelösung als ausgezeichnet, in die die Körner auf 24 Stunden eingebracht werden.

Im Kefir treten mindestens zwei Gärvorgänge in den Vordergrund und liefern diejenigen Stoffe in fertigem Produkt, die für ihn charakteristisch sind. Es ist die Milchsäuregärung des Milchzuckers

und die alkoholische Gärung. Außerdem wird ein Teil des Kaseins peptonisiert und abgebaut, während der Rest in feinster Verteilung durch die gebildete Milchsäure ausgeschieden wird. Schon die Analysenergebnisse an Kefir deuten auf die genannten Hauptveränderungen der ursprünglichen Milchbestandteile hin.

Die folgende kleine Tabelle [1]) enthält die Mittelzahlen von 33 Kefiranalysen:

Wasser	Gesamtstickstoffsubstanz	Kasein	Albumin	Azidalbumin	Hemialbumose	Pepton	Fett	Milchzucker	Milchsäure	Alkohol	Asche
88,86%	3,39%	2,80%	0,38%	0,25%	0,18%	0,03%	2,76%	2,52%	0,98%	0,84%	0,65%

Der Alkoholgehalt erscheint in der obigen Zusammenstellung verhältnismäßig gering, was man aber damit erklären muß, daß es sich eben um eine Durchschnittszahl handelt. Häufig erreichen die Werte für den Alkohol 1—1,5%. Die bei der Kefirgärung tätige Mikrobenflora wurde von Kern im Jahre 1882 zum erstenmal etwas genauer untersucht und im wesentlichen aus Hefen und Bakterien bestehend gefunden. Kern identifiziert die Hefen mit dem Saccharomyces cerevisiae und beschreibt eine besonders auffallende Bakterienart, Dispora caucasica, so genannt, weil sie an beiden Enden eine Spore ausbildet. Figur 150 zeigt die Hefe und die Dispora caucasica nach Kern.

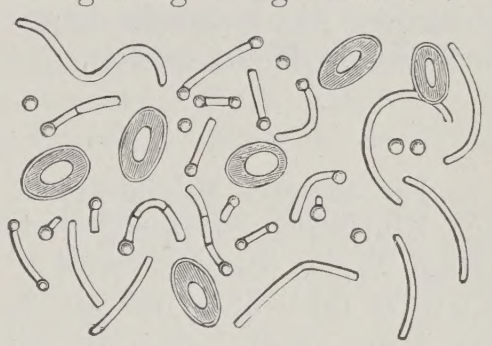


Fig. 150.

Spätere Untersuchungen ergaben eine etwas verschiedene Mikrobenflora, was aber bei dem allerdings sehr verschiedenen Ausgangsmaterial nicht allzusehr verwundern kann. Wenn man versucht, das wesentlichste in dieser Hinsicht aus den zahlreichen Angaben herauszuschälen, kommt man zu dem Ergebnis, daß es sich dabei jedenfalls um eine Mischgärung von Bakterien und Sproßpilzen handelt. Zahlreiche eingehende Untersuchungen haben ergeben, daß das Kefirkorn in den äußeren Teilen vornehmlich Sproßpilze enthält, dann gewöhnliche Milchsäurebakterien und schließlich im Innern sporenbildende, dem Heubazillus nahestehende Kefirbakterien. In den getrockneten Kefirkörnern kann man allerdings noch eine Reihe von anderen Mikroorganismen nachweisen, die aber als Verunreinigung aufzufassen sind. Die Milchsäurebakterien rekrutieren sich aus Laktobazillen und Milchsäurestreptokokken. Die vorgefundenen Sproßpilze gehören zur Gattung Torula, zeigen also keine Sporenbildung. Sie vergären die Laktose, was besonders für die Torula Kefir gilt. An Verunreinigungen stellen sich in erster Linie neben Kartoffelbazillen Oidium lactis und einige Schimmelpilze ein. Für die eigentliche Kefirgärung soll nur die genannte Torula Kefir und das den Laktobazillen zugehörige Bacterium caucasicum von Bedeutung sein. Noch neuere Untersuchungen, die mit ausgetrock-

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, Berlin 1904, Bd. 2, S. 747.

netem und älterem Material angestellt wurden, ergaben das Fehlen der Laktobazillen, die in diesem Ausgangsmaterial wahrscheinlich infolge der langen Trocknung und des Alters einfach nicht mehr lebensfähig waren, während natürlich die sporenbildenden Arten, bzw. deren Sporen, sich reichlich ungeschädigt erhalten konnten. Wir finden für die Flora in diesem Falle neben Hefen Milchsäurestreptokokken und zwei Arten sporenbildender Bakterien angegeben. Es sind dies der Bacillus esterificans Maassen und der Bacillus Kefir, der den aëroben Buttersäurebakterien außerordentlich nahesteht.

Die Sproßpilzbefunde aus Kefir sind auch keineswegs einheitlich. Es wurden in erster Linie sporenfreie Hefen, also eigentlich Torulaarten und dann auch echte Saccharomyzeten isoliert. Von Bedeutung sind nur die milchzuckervergärenden Arten, wie Saccharomyces Kefir Beijerinck, Saccharomyces fragilis Jörgensen und Torula Kefir; daneben fand man auch Arten, die die Laktose nicht unmittelbar zu vergären vermögen. Interessant ist noch der sporenbildende Saccharomyces cartilaginosus wegen seiner knorpeligen und gekrösartigen Kolonien, die vielleicht beim Entstehen der Kefirkörner eine nicht unbedeutende Rolle spielen.

4. Kumiß.

Ein anderes Milchgetränk ist der Kumiß, welcher in den russischen und sibirischen Steppengebieten aus Stuten- oder Eselmilch auf verschiedenartige Weise bereitet wird. Meist dient zur Weiterverimpfung alter Kumiß oder aber der an der Sonne getrocknete Bodensatz desselben, der dann „Kor“ genannt wird. Nach den Angaben von Rubinsky[1]) „dient Baschkiren und Tartaren als Ausgangsmaterial für den nur während der Sommermonate bereiteten Kumiß „Katik“ und „Airan“. Katik ist abgerahmte, saure, mit Wasser versetzte Kuhmilch, die auch als Getränk genossen wird. Zur Herstellung von Airan wird Katik gekocht und mit kochendem Wasser verdünnt; bei der oft monatelangen Aufbewahrung in offenen Gefäßen stellt sich Kohlensäureentwicklung ein. Von Airan erhält man nach 5—6, von Katik nach 8—10 Übertragungen normalen Kumiß. Fehlt es an Katik oder Airan, so bereitet man aus frischer Bierhefe, Weizenmehl, etwas Honig und Milch einen Teig, den man in der Wärme in Gärung geraten läßt und dann in ein Stück Leinwand gehüllt in die etwa zehnfache Milchmenge trägt.“

Ein sehr alkoholreiches Getränk brauen sich die Tartaren im taurischen Gouvernement, indem sie dazu zehn Teile Stutenmilch, einen Teil Branntwein und einen Teil Honig verwenden, damit Krüge füllen, und sie dann in die Erde eingraben, wo die Masse gärt. Zur Bereitung von Kumiß verwendet man auch Holzgefäße und Säcke aus Pferdehaut. Meist wird sich die Gärungstemperatur um 20° bewegen. Eine höhere Temperatur befördert die Säuerung des Produktes.

Der Kumiß ist durch einen hohen, sich zwischen 1,5—3% bewegenden Alkoholgehalt und einen erheblichen Säuregehalt, der 1—1,5% beträgt, ausgezeichnet. Bei der Kumißgärung erleiden die Eiweißstoffe

---

1) Zitiert nach Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, Seite 292.

der Milch eine wenig tiefgreifende und wenig ausgedehnte Zersetzung. Das Milchfett scheint überhaupt intakt zu bleiben. In der folgenden kleinen Tabelle [1]) sind Mittelzahlen für die Bestandteile des Kumiß aus verschiedenen Milcharten angegeben, aus denen die Zusammensetzung desselben ohne weiteres erhellt.

Kumiß aus:	Anzahl der Analysen	Wasser %	Alkohol %	Milchsäure %	Milchzucker %	Stickstoffsubstanz %	Fett %	Asche %	Kohlensäure %
Stutenmilch . .	65	91,29	1,72	0,87	1,98	2,27	1,46	0.41	0.73
Kuhmilch . . .	10	89,20	1,14	0,55	4,09	2,66	1,83	0,43	0.86
abgerahmter Milch	9	89.55	1,38	0,82	3,95	2,89	0,88	0,53	0,77
Molken	1	91.07	1,38	1,26	4,34	1,01	0,15	0,79	—

5. Lambic, Faro, Mars und Kriekenbier.

In Brüssel und wenigen anderen Orten Brabants erzeugt man teilweise heute noch Biere, die unter den Namen Lambic, Faro und Mars bekannt sind. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Biere, die man absichtlich durch eine saure Gärung verändert. Nach unserer Vorstellung von einem Bier müssen wir dieses Getränk eigentlich als künstlich krankgemachtes Bier bezeichnen.

Nach dem alten Herstellungsverfahren dieser Biere wurde ein Gemisch von fein gemahlenem und nur leicht gedarrtem Malz und grob zerkleinertem Weizen in einem Bottich bei 40—50° C eingemaischt. Diese Maische versetzte man dann mit siedendem Wasser und bedeckte die Flüssigkeitsoberfläche mit Weizenspelzen. In diese Maische kamen nun große, wenig konische und durch einen gewölbten Boden verschlossene Weidenkörbe (stuyk manden"), deren Höhe derjenigen der Bottiche entsprach und deren Breite 55—60 cm ausmachte. In diesen Einsatz dringt die mehlige Brühe („slym") ein und wurde mit Hilfe von kupfernen Becken („Kleyn Ketels") ausgeschöpft, in die Hopfenpfannen („sleym Ketel") gegeben und dort mit einer zweiten Maische durch etwa 20 Minuten gekocht. Dann wurde zuerst die Starkwürze („lambic") gezogen und durch Nachgießen von heißem Wasser die Nachwürze gewonnen. Die auf Kühlschiffen heruntertemperierte Würze kam in Fässer von 2—3 Hektolitern Inhalt. Dort blieb sie zwecks Vergärung durch Selbstinfektion.

Im Laufe der Zeit haben sich wenigstens teilweise auch für die Herstellung dieser Getränke die modernen Brauverfahren eingebürgert. Die Lambic-Würze wird nun fünf Stunden lang gekocht und dabei in der Weise gehopft, daß auf jeden Hektoliter der in die Pfanne einströmenden Würze 550—600 g Hopfen kommen. Man benützt meist ein Jahr alten Hopfen und fügt die eine Hälfte unmittelbar nach Erreichung der Kochtemperatur und die zweite Hälfte nach ungefähr dreistündigem Kochen hinzu. Die Würze für Faro und Mars wird kürzer und unter Zugabe kleinerer Mengen von Hopfen (300 g auf den Hektoliter) gekocht, wobei man den Zusatz auf einmal hineingibt. Man beläßt nun die fertige Würze über Nacht auf dem Kühlschiff und zieht sie bei einer

1) König, J., Die menschlichen Nahrungs- und Genußmittel, Bd. 2, S. 743.

Temperatur unter 15° in die Fässer ab, welche im Gärkeller gelagert sind. Im allgemeinen werden die genannten Getränke nur in den Wintermonaten von Oktober bis Mai gebraut.

Die Fässer sind nicht vollkommen verschlossen, sondern ihr Inhalt steht mit der Luft durch eine ca. 15 mm weite Bohrung im Spundzapfen in Verbindung. Die Gärung selbst setzt gewöhnlich nach einigen Tagen schwach ein und dauert mehrere Monate, wobei der sich ansammelnde Schaum an der Öffnung allmählich eintrocknet und gegen Ende des ersten Sommers dieselbe völlig verlegt. Es steht dann die Gärung still und setzt erst im folgenden Frühjahr erneut ein und erreicht eine Stärke, die es notwendig macht, die Spundlöcher wieder zu reinigen, um der entstehenden Kohlensäure freien Abzug zu gewähren. Diese zweite Gärung läßt allmählich nach und erlischt gewöhnlich am Ende des zweiten Sommers.

Die Herstellung von Lambic erfordert mindestens zwei Jahre, meist sogar länger, wenn ein ganz besonders gutes Produkt erzielt werden soll. Es soll einen leicht süßen Geschmack und einen festen Schaum aufweisen. Die folgende Zusammenstellung [1]) zeigt die chemische Zusammensetzung des entstehenden und fertigen Lambic.

	Gehalt in Prozenten nach				
	4 Tagen	11 Tagen	1 Monat	1 Jahr	2 Jahren
Extrakt . .	14,830	13,380	10,190	5.300	3,520
Alkohol . .	—	0.810	2,680	5,320	6,190
Milchsäure .	0,256	0,310	0,306	0,961	0,918
Essigsäure .	—	0,012	0,012	0,168	0,198

Daraus ist sofort ersichtlich, daß sich neben der alkoholischen Gärung auch eine Milchsäuregärung abspielt und überdies in nicht unbeträchtlicher Menge flüchtige Fettsäuren entstehen. Dieselben sind hier summarisch als Essigsäure berechnet und angegeben. Jedenfalls findet sich im fertigen Lambic auch mindestens Buttersäure.

Der Faro ist leichter vergoren und meist überdies verschnitten, um so ein möglichst gleichmäßiges Produkt zu erhalten. Diese Aufgabe obliegt dem Zurichter („gerectmaker"), der den Verschnitt rein nach dem Geschmack vornimmt.

Die Mars erhält ebenso wie der gesüßte Lambic eine Zugabe von 2—3% Saccharose in Form von Kandiszucker oder Rübenraffinade.

Die mykologische Untersuchung dieser Getränke hat eine wechselnde Flora ergeben, was nicht wundernehmen kann, da ja in der Regel eine spontane Infektion zu den Gärungen führt. Die gerade im Faß oder Gärkeller dominierende Flora wird also ausschlaggebend sein. Man findet im allgemeinen milchsäurebildende Bakterien, die zu gleich Schleimbildner sind. Es sei hier der Bacillus viscosus bruxellis erwähnt, der bei seinem Überhandnehmen für das Fadenziehendwerden der genannten drei Getränke die Ursache abgibt.

Außerdem findet man stets Hefen vom Ellipsoideustypus und Torulaarten. Die Alkoholbildung geht auf erstere zurück. Der

1) Entnommen aus dem Handbuch der technischen Mykologie von Lafar, Bd. V, S. 243.

diesen Getränken eigentümliche Geschmack ist ebenfalls auf Hefen zurückzuführen.

Aus Lambic stellt man in Brüssel das sog. Kriekenbier oder den Kriekenlambic her, indem man in 250 l ein- bis zweijährigen Lambic 40—50 kg gut gereifte, entstengelte und entkernte Schwarzkirschen oder Himbeeren u. dgl. einbringt und das noch mit Lambic aufgefüllte Gebinde mit einem durchbohrten Zapfen verschließt. Mit den Früchten werden reichlich Hefen und leicht vergärbarer Zucker eingebracht, weshalb alsbald eine Gärung einsetzt, die ca. ein halbes Jahr dauert. Die nunmehr klar gewordene Flüssigkeit wird auf ein neues Gebinde abgezogen und meist geschönt, um nach einigen Tagen auf Flaschen gefüllt zu werden. Das Kriekenbier zeigt eine rötlich bis rote Farbe, schäumt mäßig und schmeckt deutlich sauer.

6. Kwaß und verwandte Getränke.

Mit Kwaß wird ein Volksgetränk der Russen bezeichnet, das von denselben in geradezu abenteuerlichen Mengen alljährlich verbraucht wird. Rudolf Kobert definiert den Kwaß folgendermaßen: „Kwaß ist ein durch gleichzeitig saure und alkoholische Gärung 1. aus Mehl von Weizen, Roggen, Gerste, Buchweizen oder 2. aus einer dieser Mehlarten entsprechenden Malzart, oder 3. aus Brot oder 4. aus einem Gemisch der genannten Stoffe mit oder ohne Zusatz von Zucker oder zuckerhaltigen Naturprodukten bereitetes, im Stadium der Nachgärung befindliches, alkoholarmes und hopfenfreies Getränk, dem meistens gewürzige Zusätze (und zwar namentlich Pfefferminze) hinzugefügt werden."

Für die Herstellung gibt es zahllose Vorschriften, von denen hier diejenige Henricis[1]) wiedergegeben sei: „Über gelindem Feuer wird aus 2 kg Malz und der erforderlichen Menge Wasser unter Rühren ein Brei hergestellt, den man hierauf in ein Gefäß bringt und mit 18 l kochenden Wassers verdünnt. Man läßt das Gemisch durch 24 Stunden stehen, trennt dann die Flüssigkeit behutsam von dem Bodensatz ab, bringt sie in ein Gefäß, in das man 400 g Weizenmehl, 800 g gepulverten Zucker und für 3 Kopeken (60—100 g) Hefe gegeben hat, mischt durch und läßt 12 Stunden stehen. Dann wird der Kwaß auf Flaschen abgezogen, die man verstopft."

Schon die Bereitungsweise läßt bis zu einem gewissen Grade auf die dabei obwaltenden Vorgänge schließen. Wir haben zuerst eine Art kurzer Mehlteiggärung vor uns, bei der hauptsächlich jene Bakterienarten tätig sein werden, die hohe Temperaturen bevorzugen. Durch sie wird in erster Linie Milchsäure gebildet. Der folgende Zusatz von Hefe führt dann zur eigentlichen Alkoholbildung, während welcher die Säuregärung aber noch immer fortschreitet. Daneben verlaufen noch andere Umsetzungen, welche zur Bildung flüchtiger Säuren führen. Die Analysen Iljinskys zeigen dieselben Ergebnisse und überdies noch eine gewisse Abhängigkeit der Zusammensetzung dieser Getränke von der bei der Herstellung herrschenden Temperatur. Die folgende Zusammenstellung enthält die Angaben über die Mengen von Alkohol, Milchsäure und Essigsäure in verschieden altem Kwaß nach Iljinsky.

---

1) Zitiert nach Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. V, S. 252.

Gehalt in Proz. nach	1 Tag		2 Tagen		3 Tagen		4 Tagen		5 Tagen	
	nied. Temp.	19 bis 38°	nied. Temp.	19 bis 38°	nied. Temp.	19 bis 38°	nied. Temp.	19 bis 83°	nied. Temp.	19 bis 38°
Alkohol . .	Spuren	0,50	Spuren	0,50	0,50	1,00	0,50	1,00	1,00	1.00
Milchsäure .	0,09	0,20	0,15	0,35	0,21	0,44	0,29	0,51	0,32	0,56
Essigsäure .	—	—	—	0,01	—	0,08	0,01	0,10	0,01	0,15

Diese Befunde lassen erkennen, daß durch die Herstellung bei niedriger Temperatur die Alkoholbildung nur verzögert, nicht aber in der Erreichung des größten Wertes von 1% gehindert wird. Die Bildung von Milchsäure und Essigsäure wird aber nicht nur verlangsamt, sondern auch durch die tiefere Temperatur in der Menge wesentlich herabgedrückt. Mit anderen Worten ausgedrückt, entsteht bei den höheren Temperaturen ein stärker saurer Kwaß, als bei Anwendung niedriger Temperaturen, während in beiden Fällen der Alkoholgehalt dieselbe Höhe erreicht. Der Kwaß enthält neben Essigsäure auch andere flüchtige Fettsäuren in mehr oder minder großer Menge, insonderheit Ameisensäure.

Wir haben im Kwaß auch kein einheitliches Getränk vor uns; dementsprechend wird auch die Flora variieren. Daß diese Verschiedenheit bedeutend sein muß, zeigen die von Georgiewski gemachten Analysenbefunde, die in der folgenden Zusammenstellung [1]) zusammengefaßt sind.

Herkunft der Probe:	Extrakt in Gew. %	Alkohol in Vol. %	Kohlensäure in Gew. %	Essigsäure in Gew. %	Milchsäure in Gew. %
Soldaten-Kwaß aus dem klin. Hospital .	2,0	0,7	0,05	0,008	0,20
Desgl. aus der Artill.-Kaserne	2,8	1,2	0,06	0,082	0,43
Desgl. der Moskauer Regimenter . . .	3,6	2,0	0,06	0,028	0,46
Volks-Kwaß	1,0	0,8	0,03	0,007	0,20
Haus-Kwaß	2,5	1,0	0,06	0,011	0,28

Einen exakten Einblick in die Flora des Kwaß haben wir zurzeit nicht.

Mit dem Kwaß hat die von mohammedanischen Volkerschaften Rußlands, bzw. des Balkans, hergestellte Busa (Bosa) große Ähnlichkeit. Dieselbe wird meist aus Hirse, nur in Serbien und dem ehemaligen Bosnien aus Mais bereitet. Man kocht den Mais mit etwas Weizenkleie 8—12 Stunden, gibt dann Sauerteig dazu und treibt diesen Brei durch ein engmaschiges Sieb. Hierauf versetzt man die so gewonnene Flüssigkeit mit Honig oder Zucker. Das fertige Getränk ist eine trübe Flüssigkeit von säuerlich-prickelndem Geschmack. Dieselbe ist zu den alkoholarmen Getränken zu rechnen, da sie 0,7—1,9% Alkohol aufweist.

Die unteren Völkerschichten Rumäniens bereiten ein ähnliches Getränk, welches unter dem Namen Braga bekannt ist und etwa 1,6% Alkohol enthält.

---

1) Nach Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. V, S. 253.

7. Ginger-beer.

In den englischen Haushaltungen wird vielfach ein Erfrischungsgetränk hergestellt, welches man dadurch gewinnt, daß man eine 10- bis 20proz. Rohrzuckerlösung mit einigen Stücken Ingwer versetzt und dann noch Körner der Ginger-beer-Plant hinzugibt. Letztere hat ein hornähnliches Aussehen und quillt in der Flüssigkeit zu haselnußgroßen durchscheinenden Klumpen auf. In der Zuckerlösung tritt dann alsbald eine heftige Gärung ein. Nach 24 Stunden zieht man die vergorene Flüssigkeit von den Klumpen ab und füllt sie in Flaschen. Nach 2—3 Tagen wird dieses Ginger-beer oder Ingwerbier genossen.

Es handelt sich dabei um ein Getränk, das vornehmlich freie Kohlensäure und Milchsäure neben wenig Alkohol und Essigsäure enthält. Auch hier liegt eine Mischgärung von Bakterien und Hefen vor; Figur 151 zeigt einen Schnitt durch ein aufgelockertes Klümpchen der Ginger-beer-Plant und läßt vergesellschaftet wenige Hefen und zahlreiche Stäbchenbakterien erkennen. Ward beschreibt die Hefenart als aus birnenförmigen Zellen bestehend und bezeichnet sie als Saccharomyces piriformis und die wirksame Bakterienart als Bacterium vermiforme, das besonders durch seine Zellwandverdickung ausgezeichnet ist, auf die schon auf Seite 39 hingewiesen worden ist.

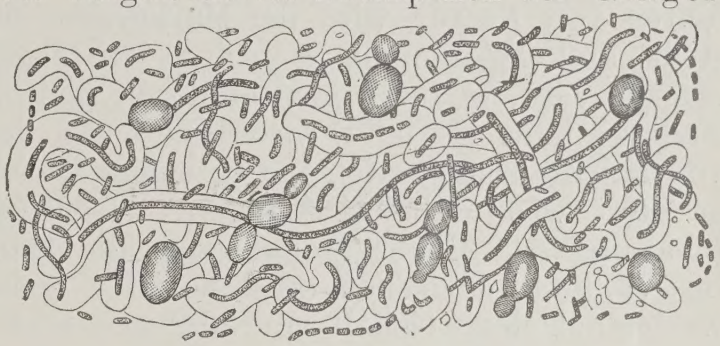


Fig. 151.

8. Tibi.

Bei den mexikanischen Fabrikarbeitern ist ein Erfrischungsgetränk beliebt, das ebenfalls eine schäumende, schwach saure und alkoholische Flüssigkeit vorstellt. Es wird aus Zuckerlösungen durch die gemeinsame Tätigkeit des Bacillus mexicanus und der Pichia Radaisii gewonnen. Beide genannten Mikroben finden sich im Tibi, jenen stecknadelkopf- bis erbsengroßen, durchscheinenden Klümpchen, die sich in Mexiko auf der Kaktusfeige (Opuntia) finden. Der Bacillus mexicanus ist ebenfalls ein Kapselbakterium und wächst zu fadenförmigen Bildungen aus.

9. Negerbier.

Auch bei den wilden Völkerschaften finden wir durchwegs alkoholische Getränke verbreitet. So stellen die Negerstämme Afrikas aus den vielen Arten von Hirse der Gattung Sorghum, Penicillaria und Eleusine ein solches Getränk her, wobei die einzelnen Stämme verschieden verfahren. Das Wesentlichste dabei ist aber immer darin gelegen, daß man die Hirsekörner keimen und vielfach in der Sonne darren läßt und dann dieses Malz fein zerstampft. Hierauf setzt man Wasser zu und läßt den dünnen Brei entweder so oder nach vorherigem Erhitzen bis zum Sieden stehen. Es stellt sich alsbald eine milchsaure und alkoholische Gärung ein. Nach einigen Tagen wird das ganze mit oder ohne nochmaligen Zusatz von Hirsemehl genossen.

Von diesen verschiedenen Negerbieren ist das als Pombe der deutsch-ostafrikanischen Stämme bekannte etwas genauer untersucht worden. Als besondere Alkoholhefe wurde darin von Lindner der Schizosaccharomyces Pombe erkannt. Der Alkoholgehalt von Pombeproben betrug 2,4%, während der Säuregehalt, auf Milchsäure berechnet, 0,5% ausmacht. Entsprechend der Herstellungsweise durch spontan sich einstellende Gärungserreger dürfte es sich nicht ausschließlich um Milchsäure handeln, sondern es werden vielmehr auch flüchtige Säuren, wie Essigsäure und Buttersäure, gebildet worden.

10. Malton- und Malzwein.

Unter Maltonwein versteht man aus Malzaufgüssen unter Zusatz von Zucker hergestellte Getränke, die einen den Süß-, bzw. Dessertweinen gleichen Extrakt- und Alkoholgehalt aufweisen. Nach dem Verfahren von Sauer wird der Maltonwein besonders in der Weise hergestellt, daß Gerstenmalz nach dem aufsteigenden Infusionsverfahren vermaischt wird, wodurch man eine sehr maltosereiche Würze von 17—22% Balling erhält. Bei 50° C wird diese Würze durch zugegebene Reinkulturen von Milchsäurebakterien bis zu einem Gehalt von 0,6—0,8% Milchsäure gesäuert, was in 18—24 Stunden vor sich geht. Nunmehr wird zur Ausschaltung der Milchsäurebakterien die Maische auf 85—90° C erhitzt, im Vakuum eingeengt oder durch Zugabe von eingedickter Maische wieder auf einen Gehalt von 20% gebracht und mit einer großen Menge von Südweinhefe angestellt. Schon nach drei Stunden setzt eine stürmische Gärung ein. Durch entsprechende weitere Zusätze von Malzextrakt und endlich reinem Rohrzucker treibt man die alkoholische Gärung so weit, daß nach 5—6 Tagen 16 Volumprozente Alkohol erreicht werden. Das Produkt bleibt weiter stehen und erreicht nach einigen Wochen 18% Alkohol und ist klar geworden. Es wird von der Bodensatzhefe abgezogen und durch 3—4 Wochen unter Luftzutritt einer Warmlagerung unterworfen. Dann erst macht es im Keller in Fässern eine Nachgärung durch, um endlich als reif in Flaschen abgefüllt zu werden. Bei der Herstellung ist besonders darauf zu achten, daß nicht zu viel Milchsäure und überhaupt nicht nennenswerte Mengen von flüchtigen Säuren gebildet werden.

Die Malzweine unterscheiden sich von den Maltonweinen dadurch, daß ihr Extrakt- und Alkoholgehalt demjenigen von gewöhnlichen Tischweinen gleichkommt. Sie enthalten dementsprechend nur geringe Mengen von Alkohol und Extrakt. Außerdem sind sie meist reich an Essigsäure. Die nachstehende Tabelle zeigt die Zusammensetzung von drei verschiedenen Maltonweinsorten und einem Malzwein nach König.

Bestandteile in g in 100 cc	Malzwein	Malton-Tokaier	Malton-Sherry	Malton-Portwein
Alkohol	4,71—7,60	9,61—10,85	12,30—14,71	12,49—12,90
Extrakt	1,22—4,65	24,80—31,70	11,10—12,86	15,72—17,01
Zucker	0,10—1,60	16,91—19,77	5,58—6,81	10,21—11,04
Flüchtige Säure als Essigsäure	0,01—0,15	0,07—0,09	0,05—0,06	0,08
Milchsäure	0,23—0,37	0,67—0,80	0,59—0,68	0,78—0,84
Glyzerin	0,30—0,50	0,28—0,81	0,29—0,70	0,23—0,62
Mineralstoffe	0,056—0,190	0,24—0,37	0,17—0,23	0,18—0,19

VI. Abschnitt.

Umsetzungen durch Hefe.

1. Bier.

Nahrungsmittelchemisch versteht man unter Bier ein durch Hefegärung und Gerstenmalz — oder bei bestimmten Sorten Weizenmehl — unter Zugabe von Hopfen und Wasser bereitetes Getränk, welches neben nur wenig weiter vergärbaren Extraktionsstoffen vornehmlich Alkohol und Kohlensäure enthält.

Die Braukunst ist uralt und stammt aus vorgeschichtlicher Zeit. Bereits die alten Ägypter verstanden zwei Sorten von Bieren zu bereiten, von denen die eine besonders gewürzt war, während die andere eine mehr weinartige Beschaffenheit aufwies. Sie schrieben die Erfindung dieser Biere dem Gott Osiris zu. Eine besondere Heimstätte fand die Braukunst überall dort, wo der Weinbau infolge klimatischer Verhältnisse bedeutungslos blieb. Dies traf besonders für Germanien zu. Tacitus berichtet uns eingehend über das aus Gerste von den Germanen bereitete Bier, das er als schlechten Wein bezeichnete. Alle diese Biere entbehrten aber jeglichen Zusatzes von Hopfen, der in Deutschland erst um das Jahr 1000 n. Chr. in die Bierbrauerei Eingang gefunden haben dürfte. So entwickelte sich aus den ersten primitiven Anfängen die heutige Brautechnik heraus, die nunmehr auf dem festen Fundament exakt wissenschaftlicher Grundlage ruht.

Wie schon an früherer Stelle gesagt, unterscheidet man im wesentlichen zwei Typen von Bieren, die obergärigen und untergärigen Biere. Jeder dieser Typen ist durch eine große Anzahl verschiedener Vertreter repräsentiert. Auch durch die Art der verwendeten Rohstoffe ist die Vielheit der Biersorten bedingt. Es soll hier auf die Methoden der Herstellung des Malzes und der Gewinnung der Würze nicht weiter eingegangen, sondern lediglich kurz die Gärführung als solche gestreift werden.

Die Physiologie der Hefe lehrt die wechselseitigen Beziehungen zu dem Nährboden, der Züchtungstemperatur, der Hefevermehrung, der Alkoholbildung und den übrigen von der Hefe erzeugten Stoffwechselprodukten. Die Brautechnik hat sich all diese rein wissenschaftlich gewonnene Erkenntnis in ausgiebiger Weise zunutze gemacht. Wie schon

früher dargetan, steht heute im Gärbetrieb die Verwendung bestimmter Hefearten in Reinkultur obenan. Da man im allgemeinen nicht für jeden Gärbottisch eine aus dem Reinzuchtapparat kommende Anstellhefe aus wirtschaftlichen Gründen verwenden kann, trachtet man die Reinhaltung der Stellhefe dadurch zu erreichen, daß man der passenden Reinhefe besonders günstige Bedingungen schafft und so durch sie selbst alle anderen im Verlaufe der Gärführung etwa eindringenden fremden Mikroben unterdrücken läßt. Für verschiedene Biersorten verlangt man ganz spezifisch wirkende Heferassen. Es gibt im allgemeinen solche, die Kohlehydrate ganz besonders kräftig angreifen und bereits das Maltodextrin der Bierwürze zu verzuckern vermögen. Solche Hefen sind im Typus Frohberg vertreten und führen bei ihrer Anwendung naturgemäß zu einer sehr rasch verlaufenden und die vorhandenen Kohlehydrate fast vollständig aufbrauchenden Gärung. Hefen vom Typus Saas vergären aber nur Maltose, ohne Maltodextrin zu verzuckern. Die Hauptvergärung spielt sich durch die in der Gärflüssigkeit gleichmäßig verteilte Hefe ab, während die bereits am Boden des Gärgefäßes abgesetzten Hefen nur wenig dazu beitragen. Hat eine Hefe daher die Tendenz, rasch abzusetzen und zu verklumpen, so wird sie ebenfalls weniger wirksam. Man bezeichnet solche Hefen als „Bruchhefen" zum Unterschied von den „Staubhefen", welche sich längere Zeit hindurch in der Würze schwebend erhalten. Neben den verzuckernden und alkoholbildenden Eigenschaften einer Hefe spielt deren Eiweißspaltungsvermögen ebenfalls eine wesentliche Rolle, da dadurch das Endprodukt Bier auch wesentlich beeinflußt wird. Die Brauführung kann regulatorisch in die Tätigkeit der verwendeten Hefe dadurch eingreifen, daß sie bestimmte Temperaturen anwendet oder die Luftzufuhr und Lüftung der Hefe in bestimmten Grenzen hält und endlich auch die von Haus aus zugesetzte Hefemenge entsprechend wählt.

In der Brautechnik unterscheidet man entsprechend dem ober- und untergärigen Bier ober- und untergärige Hefen, die verschiedene Gärungserscheinungen aufweisen. Die obergärigen Hefen sind durch ein großes Auftriebsvermögen ausgezeichnet. Sie bleiben lange schwebend und sammeln sich hauptsächlich an der Oberfläche an, wohin sie gleich bei Beginn der stürmisch einsetzenden Gärung getrieben werden. Dabei ist die Hefevermehrung eine ausgiebige, weshalb auch beim obergärigen Verfahren relativ große Hefeernten zu verzeichnen sind. Die geringe Menge von Bodensatzhefe ist dabei in lockeren Schichten am Boden des Gärbottichs vorhanden. Die untergärigen Hefen setzen sich fast ausschließlich am Boden fest, so daß die an der Oberfläche schwimmenden Kräusen sehr arm an Zellen sind. Der Bodensatz ist fest und zusammenhängend, so daß die Klärung rasch und vollkommen erfolgt. Die Vermehrung ist geringer als bei den obergärigen Hefen, da auch bedeutend tiefere Temperaturen für den Gärprozeß gewählt werden.

Bei der Umwandlung der Würze in das fertige Bier durch die Lebenstätigkeit der Hefezellen wird nicht nur entstehender Zucker in Alkohol und Kohlensäure vergoren, sondern auch die in der Würze vorhandenen Eiweißstoffe werden zum großen Teil abgebaut. Vom Zucker wird auch nur ein Teil vergoren, während gewisse Mengen von der Hefe ebenso wie die vorhandenen stickstoffhaltigen Verbindungen zum Aufbau der eigenen Leibessubstanz verwendet werden. Dementsprechend tritt eine nam-

hafte Verminderung der genannten Stoffe ein. Anderseits treten Stoffwechselprodukte bei der Gärung auf, die in der Flüssigkeit verbleiben und ihr bis zu einem gewissen Grad ein charakteristisches Gepräge aufdrücken. Der Vergleich der Analysen von Bierwürze und dem fertigen Bier einer und derselben Sorte läßt diese Verhältnisse unschwer erkennen, wie die folgende Zusammenstellung es zeigt.

Produkt:	Extrakt %	Stickstoffsubstanz %	Maltose und sonstiger Zucker %	Dextrin u. Gummi %	Milchsäure %	Phosphorsäure %	Asche %	Kohlensäure %	Alkohol %	Glyzerin %
Anstellwürze für Lagerbier	14,94	0,629	9,44	4.46	0,095	0,087	0,318	—	—	—
Lagerbier	5,49	9,570	1,080	3,17	0,178	0,067	0,207	0,207	3,69	0,181

Der moderne Betrieb nützt, wie schon gesagt, jede Möglichkeit aus, die einmal eingeführte und als gut erkannte Hefeart auch rein im Betrieb zu erhalten. Trotzdem sind die Möglichkeiten der Infektion im Zuge der ganzen Herstellung doch noch immer recht zahlreich. Es treten dann durch wilde Hefen und besonders auch bestimmte Bakterien im fertigen Produkt Veränderungen auf, die es zum Genuß minder tauglich oder überhaupt unbrauchbar machen. Solche Veränderungen bezeichnet man als Bierkrankheiten. Sie äußern sich meist in einer Trübung des Bieres, in Säuerung und Verfärbung desselben und endlich in dem Auftreten von unangenehmen Geruchs- und Geschmacksstoffen.

Die genannten Veränderungen betreffen vornehmlich das fertige Bier, während andere Veränderungen aber auch schon während der Gärung sich ausbilden können. Die hervorragendste Rolle spielen dabei die sog. Krankheitshefen, während die Schimmelpilze und Mykodermen kaum in Betracht kommen. Letzteres gilt auch für Bakterien, die sich normalerweise bei dem höheren Alkoholgehalt des Bieres kaum entwickeln und deshalb zu besonderen Störungen keine Veranlassung geben können. Von einem Absterben der Bakterien in Bieren während der üblichen Aufbewahrungsdauer derselben kann aber keine Rede sein, da selbst Flaschenbiere sehr reich an lebenden und entwicklungsfähigen Bakterien sein können, wie entsprechende Untersuchungen dargetan haben. Die Zahl derselben überschreitet oft den Keimgehalt guten Trinkwassers. Selbst pathogene Bakterienarten können sich im Bier längere Zeit hindurch entwicklungsfähig erhalten. Meistens kommt eine nennenswerte Veränderung des Bieres durch diese Infektionen mit zahlreichen Bakterienarten nicht zustande.

Trotzdem sind aber Bakterienarten bekannt geworden, die bei gehäuftem Auftreten eine Schädigung des Bieres hervorzurufen vermögen. Vor allem spielen dabei Pediokokken und Sarzinen eine hervorragende Rolle. Man spricht ja geradezu von einer „Sarzinakrankheit des Bieres“. Im untergärigen Bier treten dabei eigenartige Geruchs- und Geschmacksprodukte auf, die so charakteristisch sind, daß man sie schon bei geringer Entwicklung dieser Kugelbakterien herausfindet. Besonders auffallend ist der Geruch von sarzinakranken Bieren. Der Geschmack eines solchen Bieres ist oft schwach sauer, mitunter

aber sehr sauer. Die Säuerung geht dabei auf die Bildung von Milchsäure zurück. Hand in Hand mit den genannten Erscheinungen bildet sich auch meist eine Trübung des Bieres aus, die zuerst nur unwesentlich ist und mit einem zarten Schleier beginnt. In der Folge kann dieselbe sehr stark werden und schließlich wieder verschwinden, indem sich die Pediokokken zu Boden setzen und dort einen zusammenhängenden und mitunter auch fadenziehenden Belag bilden. In demselben ist dann die vorhandene Hefe eingeschlossen. Als Infektionsquelle kommt in erster Linie der Malzstaub in Betracht, dessen Verschleppung durch das Schuhwerk und die Kleider der Arbeiter erfolgt. Wir haben es bei der Sarzinakrankheit des Bieres wohl nicht mit einer Infektion durch eine einzige Art zu tun, vielmehr sind nach den vorliegenden Berichten mehrere Pediokokkenarten anzunehmen, die unter günstigen Bedingungen diese Schädigung des Bieres hervorrufen können. Davon sind als Hauptrepräsentanten der Pediococcus damnosus und Pediococcus perniciosus zu erwähnsn. Der erstere soll nur den Geschmack und Geruch beeinträchtigen und letzterer überdies noch die Trübung hervorrufen. Eine gegen Alkohol besonders widerstandsfähige Art ist der Pediococcus Hennebergi.

Einen häufigen Befund bilden besonders in obergärigen Bieren Essigsäurebakterien. In untergärigen Bieren sind sie nur in sehr geringer Zahl anzutreffen. Meist verursachen sie keine Schädigung, was wohl darin seinen Grund hat, daß sie sich nur bei genügendem Zutritt der Luft ausgiebig vermehren und die Essigsäuregärung des Alkohols erregen können. Deshalb findet man sie auch nur in schlecht verschlossenen Bieren oder in wenig gefüllten und nur mit Watte u. dgl. bedeckten Flaschen in starker Vermehrung. Unter diesen Umständen werden sie dem betreffenden Biere allerdings einen mehr oder minder ausgesprochenen Geruch nach Essigsäure und sauren Geschmack verleihen. Sie siedeln sich dann in einer für die verschiedenen Arten meist typischen Kahmhaut an. Es kann übrigens auch zu ausgebreiteten Trübungen kommen, wenn die gerade wachsende Essigbakterienart ein Schwärmstadium besitzt, wie wir es für zahlreiche Essigbakterien schon kennen gelernt haben. Wenn die Essighäute untersinken oder die beweglichen Bakterien zur Ruhe gekommen zu Boden fallen, so entstehen auch deutlich geschichtete Bodensatzbildungen, was für das Lindnersche Bacterium albuminosum, eine Essigbakterie, geradezu typisch ist. Dasselbe erzeugt nämlich in trübem Bier einen in seiner Konsistenz an das Weiße des Eies erinnernden Bodensatz von schleimiger Beschaffenheit. Man bezeichnet das Essigsauerwerden des Bieres als „Essigstich" desselben.

Die als „Umschlagen des Bieres" bekannte Erscheinung wird dadurch augenfällig, daß im Bier Trübungen und „Schlieren" auftreten, die nach einiger Zeit einer Klärung wieder Platz machen, wobei es zur Bildung eines Bodensatzes kommt. Der Geschmack wird dabei säuerlich verändert. Die Säuerung ist auf eine Milchsäuregärung zurückzuführen. Dieselbe wird meist durch dünne, schlanke Stäbchenbakterien hervorgerufen, die kürzere Fadenverbände bilden. Ein Erreger des Umschlagens des gehopften Lagerbieres ist der Bacillus Lindneri Henneberg. In obergärigen Bieren, die das Umschlagen zeigen, findet man meist den Saccharobacillus Pastorianus, dessen Abart

Saccharobacillus Pastorianus var. berolinensis von Henneberg näher untersucht wurde.

Auch das sog. „Langwerden des Bieres" wird durch Spaltpilze hervorgerufen. Dabei bekommt das Bier eine fadenziehende Beschaffenheit und Konsistenz von Hühnereiweiß. Bei längerer Aufbewahrung geht die schleimige Beschaffenheit meist gänzlich verloren. Kugelbakterien sind für diese Krankheit selten nachgewiesen worden. Meist sind es Stäbchenbakterien, die durch Bacillus viscosus I und II van Laer dabei vertreten sind und sich besonders in obergärigem Bier finden. Auch Bacillus viscosus III van Dam kommt hier in Frage.

Abnorme Gerüche erzeugen im Bier auch Würzebakterien, besonders aber Termobakterien, die für den „Selleriegeruch des Bieres" verantwortlich zu machen sind. Auch der „chlorige Geruch" im Bier geht auf die Tätigkeit von Termobacterium iridescens zurück.

Der sog. „Kellergeschmack des Bieres", der in einem dumpfigen, muffigen Geschmack besteht, soll ebenfalls durch eine Bakterie hervorgerufen werden, mit der die Infektion schon auf dem Kühlschiffe geschieht.

Wohl die meisten Bierschädigungen gehen auf Sproßpilze zurück, sei es, daß es sich um Infektionen mit wilden Hefen handelt, oder daß von Haus aus mit Mischhefen, also nicht mit Reinkulturen, gearbeitet wird. Besonders letztere können alsbald den Charakter schwach vergärender Hefen annehmen. Selbstverständlich spielen dabei auch die Beschaffenheit der Würze, kleine Änderungen in den Braumaterialien, in der Gärtemperatur usw. eine nicht zu unterschätzende Rolle. Dadurch wird einerseits die Kulturhefe ungünstig beeinflußt und andererseits den Schädlingen das Aufkommen erleichtert, so daß sie leicht die Oberhand gewinnen können.

Durch eine Reihe von Krankheitshefen und wilden Hefen kann ebenfalls eine Trübung von Bier hervorgerufen werden. Dies gilt besonders für Saccharomyces Pastorianus Hansen, Saccharomyces turbidans Hansen, Sacchoromyces validus Hansen und Willia anomala Hansen.

Trübungen werden weiter durch einige Mykoderma- und Torularten verursacht.

Unangenehme Geschmacksstoffe werden mitunter von den Kulturhefen, bzw. Kahmhautzellen derselben, selbst hervorgebracht, wie z. B. das Bitterwerden. Hauptsächlich bringt einen Geschmacks- und Geruchsfehler die Hansenia apiculata Lindner hervor, die sich sehr häufig in gar nicht geringer Menge in Jungbier und auch in Betriebshefen nachweisen läßt. Besonders unangenehm ist eine abnorme Schwefelwasserstoffbildung, die mitunter schon während der Hauptgärung durch die Kulturhefe ausgelöst wird. Die letzte Ursache bildet in diesem Falle allerdings die Beschaffenheit der Würze selbst, wenn bis zu einem gewissen Grade auch die Sproßpilzart von Einfluß ist. Entsteht die Schwefelwasserstoffproduktion aber erst beim Lagern im Faß oder in der Flasche, dann liegt die Ursache wohl in wilden Hefen, wie Saccharomyces foetidus I, welche Frew aus derartig verändertem englischen Bier züchtete.

2. Wein.

Im strengsten Sinne des Wortes kann man als Wein ein Getränk bezeichnen, das durch eine alkoholische Gärung aus dem Safte der frischen Weintrauben bereitet worden ist. Die Beschaffenheit der verschiedenen Weine hängt wesentlich von der verwendeten Traubensorte und Hefe ab. Bei der Weinbereitung werden übrigens gewisse Zusätze gestattet, die ebenfalls das Endprodukt nicht unwesentlich beeinflussen. Gewöhnlich teilt man die Weine in folgende Gruppen ein:

a) Herbe Weine. Dieselben umfassen alle gewöhnlichen Tischweine, seien es weiße oder rote. Ihr Gehalt an Alkohol schwankt zwischen 6 und 11%, an Extrakt zwischen ungefähr 2 und 5%. Die Anzahl der Sorten ist außerordentlich groß.

b) Süßweine, Dessert- oder Likörweine. Sie zeichnen sich durch einen besonders hohen Gehalt an Alkohol und Extrakt aus und besitzen einen ausgesprochen süßen und aromatischen Geschmack. Sie werden auch als Südweine bezeichnet, weil die meisten von ihnen aus den südlichen Ländern eingeführt werden. Ihr Alkoholgehalt schwankt je nach der Sorte zwischen 9 und 19% und ihr Extraktgehalt zwischen 7 und 26%. Auch von ihnen gibt es eine große Zahl von Sorten.

c) Schaumweine (Champagner). Es sind Getränke, die aus Wein hergestellt und mit Kohlensäure übersättigt werden. Von ihnen gibt es ebenfalls eine große Anzahl verschiedener Marken. Meist haben sie 8—11% Alkohol, 7—20% Extrakt und 0,4—1,5% Kohlensäure, sofern es sich um süße Marken handelt. Die herben Schaumweine sind bei ungefähr gleichem Alkohol- und Kohlensäuregehalt weitaus ärmer an Extrakt (ungefähr 1,5—3,5%).

Den genannten Weingruppen können dann noch die „weinähnlichen Getränke“ und die „Kunstweine“ angeschlossen werden. Erstere werden aus frischem Obstsaft, Pflanzensaft oder endlich Malzauszügen durch eine alkoholische Gärung hergestellt, wobei zur Erhöhung des Gehaltes an Zucker noch besondere Zuckerzusätze gemacht werden. Kunstweine sind, selbst als solche deklariert, nicht im Verkehr zugelassen und können daher hinsichtlich ihrer Herstellung aus Trestern und Hefe hier vollkommen übergangen werden.

Für die oben genannten Gruppen von Weinen kommt als Grundrohstoff ausschließlich die Weintraube in Betracht. Die Herstellung selbst ist nun bei den herben Weinen und Süßweinen eine etwas andere als beim Schaumwein. Die Kenntnis der Weinbereitung und der Genuß von Wein geht in die vorgeschichtlichen Zeiten zurück, so daß wir die Heimat des Traubenweines wohl nicht ermitteln können.

Für die Weinbereitung kommen im allgemeinen reife Trauben zur Verwendung, die möglichst spät, aber noch vor Eintritt starker Fröste im Herbst gelesen werden. Nach Neßler kann man folgende Kennzeichen für die Traubenreife anführen: Die Beeren müssen weich und die Haut dünn und durchscheinend sein. Die Stiele der reifen Trauben sind braun. Die Trauben lassen sich vom Weinstock leicht ablösen, ebenso die Beeren von der Traube. Der Saft der Beeren soll dicklich, süß und klebrig und die Samen nicht mehr von einer schleimigen Masse

umgeben sein. In südlichen Gegenden, wo eine hohe Herbsttemperatur herrscht, läßt man häufig die Trauben überreifen, wie es bei den Zibeben der Fall ist. Dabei schrumpfen die Trauben ein. Der weltbekannte Tokayer-Ausbruch wird z. B. aus solchen überreif gewordenen und geschrumpften Beeren, also Zibeben, der Traubensorte Mosler gekeltert. Ähnliche Erscheinungen des Schrumpfens zeigen auch die sog. „edelfaulen" Trauben. Diese Edelfäule tritt ganz besonders dort auf, wo die Trauben im allgemeinen früher reifen und dabei der Witterungscharakter ein nebliger und feuchtwarmer ist. Nach Müller-Thurgau wird diese Edelfäule durch einen Schimmelpilz, Botrytis cinerea, hervorgerufen. Derselbe entwickelt sich auf absterbenden und bereits toten Teilen des Weinstockes. Er bewirkt auch das Absterben und Faulen der Stiele. Dieser Pilz überwintert in seinen Sklerotien, zu denen er an abgefallenen Blättern und jungen Trieben auswächst. Im allgemeinen dringt er leicht in das verletzte Traubengewebe ein. Er vermag aber auch in die unverletzte, vollreife Beere einzuwandern; sein Myzel umspinnt die Oberfläche der Beere und breitet sich auch im Innern aus. Überall dort bräunt sich die Beere, während die Zellen selbst absterben. Diese Veränderung der Beeren hat eine vermehrte Wasserabgabe durch Verdunstung zur Folge. Gleichzeitig sinkt auch der Gehalt an Säure, während die Zuckermenge nicht wesentlich verringert wird. Botrytis cinerea benützt als Kohlenstoffquelle in erster Linie die organischen Säuren der Beere (hauptsächlich Gerbsäure, dann auch freie Weinsäure und Äpfelsäure), dann erst Glukose und erst in letzter Linie in geringem Maße Fruktose. Der Wasserverlust kann bei trockenem und zeitweise sonnigem Wetter so weit gehen, daß die Beeren einen rosinenartigen Zustand annehmen. Übrigens verhalten sich in bezug auf Edelfäule die Rebenarten verschieden. So soll die Sorte „Riesling" am leichtesten von der Edelfäule betroffen werden. Von den gelesenen Trauben wird nun die Weinmaische bereitet. Bei den gewöhnlichen Weißweinen pflegt man dabei die Weintrauben samt den Kämmen [1]), Hülsen und Kernen zu zerquetschen, wozu entweder Traubenmühlen oder hölzerne Stößel verwendet werden.

Bei der Herstellung der besseren Weißweine und besonders der Rotweine werden vor der Einmaischung die Kämme entfernt. Man rebelt also die Beeren vor dem Zerquetschen ab.

Aus der Maische wird nun der Most entweder durch Ausschleudern (Zentrifugieren) oder meist durch Pressen oder Keltern erhalten. In südlichen Ländern wird übrigens bei Weißweinen der Most auch durch einfaches Austreten mittels der Füße in schräg gestellten Bottichen gewonnen.

Der frische Traubenmost enthält alle für das Wachstum von Schimmelpilzen, Hefen und vielen Bakterien notwendigen Stickstoff- und Kohlenstoffverbindungen in reichlichem Maße. Daneben findet sich in gutem Most bereits immer eine kleine Menge von Alkohol. Die folgende Zusammenstellung enthält die Angaben der Zusammensetzung und Mittelzahlen eines guten Traubenmostes für 100 ccm:

---

1) Bei der Weintraube versteht man unter „Kämmen" oder „Rappen" die Traubenspindel mit ihren Seitenästen und die Beerenstiele.

Extrakt	Glukose	Fruktose	Stickstoff-substanz	Weinsäure	Äpfel-säure	Mineral-stoffe
19,0	8,00	9,0	0,35	0,5	0,4	0,3

Der frische Traubenmost geht, sich selbst überlassen stehend, in kürzester Zeit in Gärung über. Wie über den Kreislauf der Hefe in der freien Natur ausgeführt worden ist, beherbergt die Oberfläche der Weinbeeren, besonders zur Zeit der Reife, eine beträchtliche Menge von Hefen, die beim Keltern in den Most gelangen. Diese spontane Gärung diente bis vor wenigen Jahrzehnten ausschließlich der Weinbereitung. Die Fortschritte in den Erkenntnissen über die Gärung einerseits und ihre Erreger anderseits führte auch hier wie bei allen technischen Gärungsbetrieben zur ausgedehnten Benützung von Reinkulturhefen. Die bezüglichen Untersuchungen haben ergeben, daß bei der Weingärung Hefen von Ellipsoideus- und Pastorianustypus (S. 247) wesentlich sind. Vertreter dieser Typen geben ein bukettreiches und klares Weinprodukt, während die bei der spontanen Weingärung noch mittätigen Sproß- und Spaltpilze zum größten Teil nur als Schädlinge in Betracht kommen. Auch bei der Weingärung haben sich für die verschiedenen Sorten von Weinen ganz bestimmte Rassen aus den genannten Hefegruppen als besonders zweckmäßig ergeben, die man dann sofort vor Eintritt der Gärung in größerer Menge dem Most zusetzt. Um sicher jedes Überwuchern der wilden, von Haus aus im Most befindlichen Mikroben auszuschalten, pflegt man vielfach den frischen Most vor der Beimpfung mit den Reinkulturen einige Zeit auf 60° zu erwärmen, also zu pasteurisieren. Dabei muß aber jedenfalls besonders darauf gesehen werden, daß keine Erhitzung über 60° eintritt, da sonst der Traubensaft Veränderungen erleidet, die sich in einem nicht angenehmen Kochgeschmack äußern und durch die nachherige Gärung nicht mehr entfernt werden können.

Die Weingärung pflegt man bei einer mittleren Temperatur von ca. 15° C, wie sie in den meisten nicht besonders gekühlten Kellern herrscht, durchzuführen. Der ganze Gärungsvorgang zerfällt im allgemeinen in zwei Teile, einer Hauptgärung und einer Nachgärung, die sich bei Weiß- und Rotweinen etwas unterscheiden. An die Gärung schließt sich dann die Reifung oder Schulung des Weines, Vorgänge, die im allgemeinen nur zum geringen Teil auf lebende Organismen zurückgehen.

Die Hauptgärung stellt sich im Most in kurzer Zeit ein und verläuft, je nach der Temperatur, in 5—8 Tagen und bei besonders tiefer Temperatur oft erst in einigen Wochen. Dabei befindet sich der Most in Fässern, die mit Gärspunden versehen sind. Letztere gestatten der entstehenden Kohlensäure freien Durchtritt, verhindern aber das Einströmen von Luft und wilden Hefen und Bakterien aus derselben. Eine besondere Lüftung während der Hauptgärung ist dort unbedingt notwendig, wo die Gärtemperatur sehr niedrig ist und daher die Gärung träge und langsam verläuft oder der Most ganz besonders zucker- und proteinreich ist. Nach Ablauf der Hauptgärung wird bis zum Spund aufgefüllt und etwas fester verschlossen, aber immer nur so, daß die Kohlensäure noch entweichen kann. Nach dem ersten Abzug erfolgt dann die Nachgärung, ebenfalls bei vollgefülltem und fast vollständigem Verschluß des Fasses.

Bei den Weißweinen verfährt man gewöhnlich so, daß man unmittelbar nach der Lese keltert und den Most in nicht geschwefelte Eichenholzfässer bei einer Temperatur von 15° C bringt, wobei man darauf sieht, daß etwa ein Achtel des Fasses leer bleibt. Dann wird sofort der Gärspund aufgesetzt. Nach Zurückgehen der stürmischen Erscheinungen der Hauptgärung füllt man das Faß voll und verschließt wieder mit dem Gärspund. Der Wein beginnt sich zu klären. Am Boden des Fasses sammelt sich der Weingeläger. Im Dezember bis Januar wird vom Weingeläger der Wein abgezogen, in Fässer voll eingefüllt und mit dem Gärspund verschlossen. Es setzt nun die weniger stürmische Nachgärung ein, bei der fast der gesamte Zucker aufgebraucht wird. Es bildet sich wieder ein etwas verminderter Weingeläger. Der Wein hat sich innerhalb der nächsten 2—3 Monate meist vollkommen geklärt und wird zwecks weiterer Reifung abermals in frische Fässer gefüllt.

Bei Rotweinen muß man bei der Vergärung eine höhere Temperatur anwenden, etwa 18° C, um sie rasch verlaufen zu lassen. Sie dauert unter diesen Umständen meist nicht über zehn Tage. Bei der Rotweinbereitung unterscheidet man eine geschlossene und eine offene Gärung. Bei ersterer gibt man die Maische bis zu $^4/_5$ des Raumgehaltes in Fässer oder Gärkufen und verschließt mit einem Gärspund, wie beim Weißwein. Es tritt eine stürmische Hauptgärung ein, bei der die Trestern durch die aufsteigende Kohlensäure gehoben werden und an der Oberfläche den sogenannten „Hut" erzeugen, der erst nach der Gärung langsam zu Boden sinkt. Diese Art der Gärung verläuft immer etwas langsamer, weshalb keine genügende Auslaugung des Farbstoffes aus den im Hut befindlichen Hülsen stattfinden kann. Aus diesem Grunde benützt man häufig Kufen, die in Zweidrittel- bis Dreiviertelhöhe einen fein durchlochten Doppelboden angebracht haben. Dadurch verhindert man die Hutbildung, denn die durch die Kohlensäure in die Höhe gewirbelten Trestern können den durchlochten Boden nicht passieren und bleiben so ständig in der Flüssigkeit. Unter diesen Verhältnissen findet eine genügende Auslaugung der Beerenhülsen statt. Um eine schnellere Vergärung zu erzielen, wendet man bei Rotweinen auch häufig die offene Gärung an. Bei derselben kommt die Maische in offene Kufen. Auch hier sammelt sich bei der Hauptgärung an der Oberfläche der „trockene Hut", weshalb auch hier die Auslaugung eine ungenügende ist. Überdies sind Infektionen mit schädlichen Organismen (wilden Hefen und Essigbakterien) sehr leicht möglich. Man verwendet auch hier oft Siebböden, wodurch wenigstens der trockene Hut vermieden wird. Anderseits kombiniert man häufig beide Gärungen, indem man nach der ersten stürmischen Gärung die Kufen verschließt und so in geschlossenem Raum die Hauptgärung zu Ende gehen läßt. Im Dezember bis Januar wird von den Trestern der Rotwein abgezogen und geschlossen, wie beim Weißwein, einer Nachgärung unterworfen, die meist ziemlich schnell verläuft, da nur mehr wenig vergärbarer Zucker vorhanden ist.

Wie schon angedeutet, ist der vergorene Wein, der also die Haupt- und Nachgärung durchgemacht hat, noch keineswegs haltbar und genußfähig. Er wird noch der Reifung oder Schulung unterworfen. Er muß so lange auf frische Fässer abgezogen werden, bis er sich nicht nur vollständig geklärt hat, sondern auch bei einer längeren Einwirkung größerer

Wärme und bei längerer Berührung mit der Luft keine Trübung mehr aufweist.

Auf natürlichem Wege wird diese Reifung am besten und leichtesten dadurch erreicht, daß der junge Wein entsprechend durchlüftet wird. Dies geschieht beim öfteren Abziehen des Weines von einem Faß auf das andere und durch die Poren der Faßwände hindurch. Die Bukettbildung wird ebenfalls durch den Luftsauerstoff bei der Reifung beeinflußt. Von der Traube her gelangen Bukettstoffe bereits in den Most und bei der Gärung werden solche von der Hefe gebildet, wie der Oenanthäther (weinölkaprinsaurer und kaprylsaurer Äthyläther). Die ersteren sind wahrscheinlich ätherische Öle, die durch den späteren Einfluß des Sauerstoffes bei der Reifung verharzt werden und vielfach gleich verschwinden. Anderseits entsteht durch den Sauerstoff bei der Reifung ein neuer Bukettstoff, die sog. „Blume" des betreffenden Weines. Die Reifung führt aber nicht nur zu den genannten Änderungen der Geschmacks- und Geruchsstoffe des Weines, sondern auch zu einem Säurerückgang in demselben. Derselbe hat wahrscheinlich seine Ursache in dem Übergang der Äpfelsäure in Milchsäure, wobei Kohlensäure abgegeben wird. Diese Vorgänge kann man sich nach folgender Gleichung vorstellen:

$$HOOC . CH_2 . CH(OH) . COOH = CH_3 . CH(OH) . COOH + CO_2.$$

Diese Umwandlung von Äpfelsäure in Milchsäure ist mit größter Wahrscheinlichkeit ein biologischer Vorgang, hervorgerufen durch Mikroorganismentätigkeit. Sie findet auch schon zum großen Teil kurz nach der Hauptgärung statt. Seifert konnte nachweisen, daß dieser Säurerückgang der Lebenstätigkeit eines Spaltpilzes, des Micrococcus malolacticus, zuzuschreiben ist; diese Bakterienart konnte er in Wein mit stark abgebauter Säure nachweisen. Als besondere Säurezehrer sind hier noch Micrococcus variococcus und Micrococcus acidovorax von Müller-Thurgau und Osterwalder und Bacterium gracile von Müller-Thurgau zu nennen.

Die Abnahme der Äpfelsäure unter gleichzeitiger Zunahme der Milchsäure geht Hand in Hand mit einem Verschwinden von Weinsäure. Diese wird in Form schwer löslicher Verbindungen, wie vorwiegend saurem weinsauren Kalium, dann auch weinsaurem Kalzium und Magnesium, abgeschieden. Im allgemeinen kann man mit einem Säurerückgang von 20—40% und darüber rechnen.

Überblickt man die Vorgänge bei der Weingärung bis zum fertigen Produkt, so beziehen sich die Umsetzungen in erster Linie auf die stickstoffhaltigen Verbindungen und den Zucker des Mostes und dann auch auf vorhandene organische Säuren. Die dabei entstehenden neuen Produkte wirken auch auf sonst nicht leicht angreifbare Verbindungen zurück, was wieder zu Änderungen der Zusammensetzung führt. Die vorhandenen Zucker liefern das Hauptgärungsprodukt Äthylalkohol und Kohlensäure. Daneben treten immer noch höhere Alkohole in sehr geringen Mengen auf, für die nur zum Teil eine bakterielle Umsetzung des Zuckers als Nebenprozeß bei der Gärung verantwortlich ist. Als weiterer Nebenvorgang tritt dann die Bildung höherer Fettalkohole bei der alkoholischen Gärung der Aminosäuren in Erscheinung, wobei noch Kohlendioxyd und Ammoniak entstehen. Aus der

α-Amino-isocapronsäure (Leucin) wird in dieser Weise der Isoamylalkohol und dem Isoleucin der aktive Amylalkohol gebildet. Das auch bei der Weingärung jederzeit entstehende Glyzerin darf nicht als Nebenprodukt der alkoholischen Gärung selbst aufgefaßt werden, sondern als ein Produkt der Aminosäuregärung. Weiter entstehen organische Säuren, von denen die Bernsteinsäure bei der Weingärung in einer Menge von 0,75—1,35 Teilen auf 100 Teile Alkohol erzeugt wird. Die Muttersubstanz für Bernsteinsäure scheint die beim Proteinabbau sich bildende Glutaminsäure zu sein, die zuerst durch Hydrolyse in Oxyglutarsäure und Ammoniak gespalten werden soll:

$$\begin{array}{l} CH_2 - CH(NH_2) - COOH \\ | \\ CH_2 - COOH \\ \text{Glutaminsäure} \end{array} + H_2O = \begin{array}{l} CH_2 - CHOH - COOH \\ | \\ CH_2 - COOH \\ \text{Oxyglutarsäure} \end{array} + NH_3$$

Die Oxyglutarsäure zerfällt dann in Bernsteinsäurehalbaldehyd und Ameisensäure.

$$\begin{array}{l} CH_2 - CHOH - COOH \\ | \\ CH_2 - COOH \end{array} = \begin{array}{l} CH_2 - CHO \\ | \\ CH_2 - COOH \end{array} + HCOOH$$

Das Halbaldehyd der Bernsteinsäure wird dann oxydiert, welcher Vorgang durch die Hefeoxydase beschleunigt werden soll:

$$\begin{array}{l} CH_2 - CHO \\ | \\ CH_2 - COOH \end{array} + O = \begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ CH_2 - COOH \end{array}$$

Butter- und Essigsäure sind bakterieller Herkunft und im fertigen Wein wohl nur in sehr geringer Menge vorhanden. Wie schon früher gesagt, wird die Äpfelsäure zum größten Teil in Milchsäure umgesetzt. Außerdem kann auch unter Umständen beim Vorhandensein entsprechender Milchsäurebakterien eine unmittelbare Bildung von Milchsäure aus Zucker stattfinden. Der bei der Gärung entstehende Alkohol befördert die Ausfällung der schwerlöslichen weinsauren Salze, wie schon früher gezeigt wurde. Außerdem fallen bei zunehmendem Alkoholgehalt Gummi und Pektinstoffe und Proteine aus. Anderseits dient der gebildete Alkohol aber auch gleichzeitig als Extraktionsmittel für Gerbsäure, Farbstoffe usw. Man sieht, daß bei der Weinbereitung eine große Menge biologischer, rein chemischer und chemisch-physikalischer Vorgänge sich hinter- und nebeneinander abspielen.

Auch die Weine unterliegen zahlreichen, durch Mikroorganismen hervorgerufenen Schädigungen, die man kurzweg als **Weinkrankheiten** bezeichnet.

Das Trübwerden junger Weine ist eine vollkommen normale Erscheinung, die durch das Ausfallen von Weinbestandteilen infolge der Berührung mit der Luft zustandekommt. Wenn aber der bereits klar gewordene Wein sich neuerdings trübt, hat dies seine Ursache in dem Auftreten von Bakterien oder Kahmhefen. Wohl zu unterscheiden sind jene Trübungen von eben auf die Flasche abgezogenen Weinen, die durch das Auftreten einer Nachgärung zustande kommen. Letztere

wird hauptsächlich durch die neuerliche Durchlüftung und Verbesserung der Vermehrungsbedingungen der Hefe ausgelöst.

Unter Kahmigwerden des Weines versteht man das Auftreten von Kahmhäuten an der Oberfläche des Weines. Dieselben sind entsprechend dem vorhandenen Kahmpilze weiß oder gelblich. Mitunter trübt sich dabei auch der Wein. Alle Kahmpilze haben die Eigenschaft, den Alkohol weiter zu Wasser und Kohlendioxyd zu oxydieren. Außerdem greifen sie auch die Säuren und Bukettstoffe an. Dabei entsteht eine Reihe recht unangenehmer Stoffwechselprodukte, die den Geruch und Geschmack sehr ungünstig beeinflussen. Es kommt aber auch vor, daß der Säuregehalt durch die Tätigkeit der Kahmhefen steigt. Man bezeichnet die Kahmpilze auch kurz mit dem Sammelnamen Mycoderma vini.

Nicht allzu selten tritt das Braunwerden oder Rahnwerden der Weine auf, wobei der Wein bei der Berührung mit Luft seine Farbe ändert. Auch der Geschmack wird ungünstig beeinflußt. Dabei handelt es sich um Oxydationsprozesse, die durch Oxydasen beschleunigt werden. Die Herkunft dieser oxydierenden Enzyme kann allerdings verschieden sein. Die schon früher genannte Oenoxydase (vgl. Seite 102) stammt von den Weinbeeren selbst und ist dementsprechend schon im Traubenmost vorhanden. Weiter vermag auch der Erreger der grauen Traubenfäule, Botrytis cinerea, reichlich Oxydasen zu erzeugen, die bei stark von diesem Pilz befallenen Trauben mit in den Most gelangen müssen und später ihre Wirkung unter günstigen Bedingungen äußern können. Erst in letzter Linie ist vielleicht an mikrobielle Oxydasen zu denken. In allen Fällen des Braunwerdens verschwindet die zuerst eintretende Trübung, während sich mehr oder minder viel von einem dunkelbraunen und pulverigen Bodensatz bildet. Es tritt meist eine Ausfällung der Weinfarbstoffe auf, was besonders bei den Rotweinen auffällt.

Zu erwähnen ist hier weiter das Umschlagen oder Brechen des Weines, was man besonders häufig an Rotweinen beobachten kann. Man bezeichnet diese Krankheit auch als Modern und faulige Gärung des Weines. Im Anfange der Erscheinungen steht eine geringe Kohlendioxydproduktion. Alsbald stellt sich aber dann eine weitgehende Trübung und Farbenveränderung ein. Wenn auch die Behauptung aufgestellt wird, daß diese Veränderungen auf rein chemische Umsetzungen zwischen Aldehyd und Farbstoff oder aber auf Oxydationen des Gerbstoffes und Farbstoffes zu unlöslichen Verbindungen mit Hilfe der Weinoxydase zustande käme, so sprechen doch zahlreiche andere Befunde für das Wirken von Bakterien beim Umschlagen. Es wurden schon einige Bakterienarten aus so veränderten Weinen gewonnen, von denen der Oenobacillus Abbae und der Bacillus roseus vini genannt seien. Außerdem soll für diese Erscheinung auch ein Erreger der Mannitgärung verantwortlich sein.

Beim Weine beobachtet man auch eine als Mannitgärung bezeichnete Erkrankung, die durch ein Mannitbakterium verursacht wird. Dasselbe, ein bewegliches Stäbchen, soll eine Umwandlung von Zucker in Mannit hervorrufen. Eine andere Art soll neben der Mannitbildung noch Alkohol zu Essigsäure oxydieren. Im allgemeinen vertragen die Mannitbakterien keine allzu großen Säuregrade, wenn sie auch über ein ziemlich ausgiebiges Anpassungsvermögen in dieser Hinsicht verfügen.

Übrigens dürften es gerade Varietäten dieser Bakterien sein, die für eine Reihe von Weinkrankheiten, wie Trübung, Umschlagen und Bitterwerden verantwortlich zu machen sind.

Das Bitterwerden der Weine ist vor allem durch eine Abnahme des Säuregehaltes gekennzeichnet. Es tritt dann eine Fällung des Farbstoffes ein, während auch der Geruch unangenehm und der Geschmack bitter wird. Man hat nun aus solchem bitter gewordenen Wein eine Reihe von Bakterienarten reingezüchtet, mit deren Kulturen auch eine Infektion des gesunden Weines gelang. So fand man als wirksam eine bewegliche und sporenbildende Art, die stark durch Bildung von Buttersäure, Milchsäure und Essigsäure säuert, wobei besonders Weinstein und Glyzerin zerstört wird. Auch Organismen, die in rotem Wein Aldehyd und Ammoniak erzeugen, können das Bitterwerden durch diese Stoffe verursachen, denn schon eine sehr geringe Zugabe von Ammoniak und Aldehyd zu Rotweinen ruft dessen Bitterwerden hervor, wie es die Versuche von Trillat dartun. Auch aus dem Glyzerin sich bildendes Akrolein hat ein Bitterwerden von Weinen zur Folge. Man konnte Akrolein auch in bitter gewordenen Weinen immer nachweisen.

Neben Spaltpilzen kommen für das Bitterwerden des Weines auch höhere Pilze, wie Botrytis, Penicillium und Peronospora in Frage.

Mitunter tritt auch ein Zähewerden des Weines auf, wobei in demselben zuerst nur eine schwache Opaleszenz zu beobachten ist, die später einem Trübwerden weicht, bis endlich der ganze Wein eine fadenziehende und zähe Beschaffenheit angenommen hat. Dabei finden gleichzeitig eine Mannitbildung und Gummibildung unter Kohlendioxydabgabe statt. Verschiedene Bakterienarten werden für diese Krankheit verantwortlich gemacht, teils Kugelbakterien, teils Stäbchen. Vor allem ist hier zu nennen der Bacillus viscosus vini Kramer, mit dem auch in Reinkultur das Fadenziehen des Weines hervorgebracht werden kann. Frische Weine zeigen nach der Verimpfung in vier bis acht Wochen die Erscheinung in ausgesprochenem Maße. Eine weitere, dem Mannitbazillus sicherlich sehr nahestehende Art von Stäbchenbakterien, die sich Säuren gegenüber sehr resistent erweist, wurde ebenfalls als Erreger des „Langwerdens von Weinen" beschrieben. Später fand man auch noch andere, der vorgenannten Art ähnliche Mikroben, die sich aber durch die Bildung einer deutlichen Schleimhülle auszeichnen.

Für das Zähewerden des Weines kommt dann noch das Dematium pullulans in Betracht, das sowohl im Most als auch im Wein ausgiebig Schleimstoffe erzeugt.

Weiter müssen hier die sog. „Schleimhefen" Erwähnung finden, die zwar in ihrer Mehrzahl keine oder höchstens sehr schwache Alkoholerzeuger sind, aber zu kräftiger Verschleimung Veranlassung geben.

Eine mitunter sich sehr unangenehm bemerkbar machende Weinerkrankung ist der Essigstich des Weines. Hervorgebracht wird dieser durch eine Reihe von Essigbakterien, deren Biologie wir schon früher kennen lernten. In vielen Fällen geben die bereits den Beeren ansitzenden Bakterien die Veranlassung zur Infektion. Aber auch die Presse selbst ist häufig ein ständiger Sitz der Essigbakterien, wie Versuche von Fuhrmann schon vor längerer Zeit ergeben haben. Meist trifft

der Essigstich Weine, die keinen besonders hohen Alkohol- und Säuregehalt aufweisen. Es kann die durch Oxydation des Alkohols über Azetaldehyd stattfindende Essigbildung jedoch nur dann eintreten, wenn reichlich Luft vorhanden ist oder zum Weine Zutritt hat. Dabei siedeln sich meist Bakterienzooglöen an der Oberfläche des Weines an, die eben die Essigbakterien zusammensetzen. Wir haben aber auch Essigbakterien kennen gelernt, die ein Schwärmstadium in ihrem Entwicklungskreis besitzen. Die beweglichen Formen werden dann auch gleichzeitig eine mehr oder minder ausgesprochene Trübung im betroffenen Weine verursachen, wie es auch Untersuchungen in der Praxis ergeben haben.

Mitunter findet im Weine auch eine beträchtliche Bildung von Milchsäure statt; in diesem Falle spricht man von Milchsäurestich oder auch dem Zickendwerden des Weines. Je nachdem nun neben der dabei auftretenden Trübung nnd Veränderung des Geschmackes und Geruches die Farbe des Weines in eine weiße, milchige oder dunkelbraune bis schwarze umschlägt, spricht man von weißem oder schwarzem Bruch des Weines. Ursachen der genannten Erscheinungen sind nun vor allem Milchsäurebakterien, die mit den in der Milch auftretenden in vielen Fällen identisch sind. Deshalb muß auch bei Verwendung von Milch als Klärmittel des Weines mit einiger Vorsicht vorgegangen werden. Als Ausgangsmaterial für die Milchsäurebildung kommen in erster Linie die noch vorhandenen Zuckerreste und Äpfelsäure in Betracht. So vermag der Micrococcus malolacticus nach Seiferts Angaben aus Äpfelsäure Milchsäure kräftig zu erzeugen.

Außer Bakterien kommen für die Milchsäureproduktion noch Hefen und Schimmelpilze auf. Diese Eigenschaft zeigen einige Rassen echter Weinhefen, dann die Hansenia apiculata und einige Mykodermen. Auch hier werden besonders Äpfelsäure, dann aber, wenn auch in geringerem Grade, Weinsäure und Bernsteinsäure zu Milchsäure verarbeitet. In geringer Menge ohne ungünstige Beeinflussung des Weines findet normalerweise, wie früher dargetan worden ist, eine Milchsäurebildung statt, worin eben der Säurerückgang zum Ausdruck kommt.

Nunmehr haben wir uns noch mit der abnormen Bildung von Schwefelwasserstoff in Weinen und Mosten kurz zu beschäftigen. Man bezeichnet diese Erscheinung auch als Böcksern. Dasselbe macht sich eben durch einen intensiven, sehr unangenehmen Geruch nach Schwefelwasserstoff und eine dementsprechende Geschmacksveränderung bemerkbar. Die Schwefelwasserstoffbildung kann ihre Ursache entweder in rein chemischen Umsetzungen oder aber in den Hefepilzen selbst haben. In den meisten Fällen ist dabei der Schwefelgehalt des Mostes von Haus aus abnorm hoch. Dabei ist es aber notwendig, daß sich elementarer Schwefel in möglichst feiner Verteilung vorfindet, da schwefligsaure und schwefelsaure Salze unter den gewöhnlichen Bedingungen nicht zur Bildung von Schwefelwasserstoff führen. Wenn freier Schwefel im Moste zugegen ist, reduzieren ihn die meisten Kulturhefen. Es gibt aber auch Arten, die ohne freien Schwefel kräftig Schwefelwasserstoff erzeugen, wobei der Schwefel organischen Verbindungen oder der Hefesubstanz selbst entnommen wird.

An der Schwefelwasserstoffbildung können sich gelegentlich auch Mykodermen und Schimmelpilze mehr oder minder intensiv beteiligen.

3. Brennerei.

Im allgemeinen trachtet man im Brennereibetrieb eine möglichst hohe Ausbeute an Äthylalkohol zu erreichen. Deshalb liegen die Verhältnisse hinsichtlich der verwendeten Hefe und in bezug auf die zur Vergärung gelangenden Maischen wesentlich anders wie bei der Bier- und Weinerzeugung. Die Brennerei liefert einerseits den soviel gebrauchten Spiritus und anderseits alle stark alkoholhaltigen Genußmittel, wie Branntweine usw.

Bei der Spiritusgewinnung geht man von Maischen mit möglichst großem Gehalt an Kohlehydraten aus. Die Rohstoffe bilden meist Kartoffeln, auch Getreidearten wegen ihres großen Stärkegehaltes, dann zuckerhaltige Pflanzenteile, wie Zuckerrüben, und endlich Melasse, welch letztere ein Abfallprodukt bei der Rübenzuckerfabrikation vorstellt. Bei der Spiritusbrennerei aus Malz werden speziell Gerste, Roggen, Hafer und Mais als Rohprodukte für das Malz verwendet. Die Rohprodukte sind mehr oder minder reich an Mikroorganismen, die später in den Verlauf der Gärung sehr störend eingreifen können. Besonders die Kartoffeln beherbergen an ihrer Oberfläche sehr widerstandsfähige Mikroben. Die nach der Waschung der Rohstoffe angeschlossene „Dämpfung" mit höhergespanntem Wasserdampf hat den Zweck, die Stärke zu hydrolysieren und sie für den nun folgenden Verzuckerungsprozeß angreifbarer zu machen und zugleich eine Art Sterilisation herbeizuführen. Die Verzuckerung der Stärke kann nun auf verschiedene Art und Weise erfolgen. So entsteht aus derselben durch Säurebehandlung in der Hitze der leicht vergärbare Traubenzucker. Die Branntweinbrennerei benutzt wohl meist die Verzuckerung auf enzymatischem Wege durch Amylase (Diastase). Dazu dient das Grünmalz oder Darrmalz; beide liefern in ihren wässerigen Auszügen kräftig verzuckernde Produkte. Man mischt deshalb mit besonderen Maischapparaten die durch Dämpfen aufgeschlossenen und sterilisierten Rohstoffe mit den wasserlöslichen Extraktivstoffen des Malzes, deren Amylase eine rasche und weitgehende Verzuckerung der verkleisterten Stärke herbeiführt. Die Überführung der Stärke der Maische in Maltose ist jedoch keine vollständige, denn 100 Teile Stärke ergeben nur 80 Teile Maltose und 20 Teile Dextrin. Das Dextrin selbst ist aber in der Regel nicht unmittelbar gärfähig. Daß diese 20 Teile Dextrin dennoch nicht verloren gehen, hat seinen Grund darin, daß das Dextrin von der Amylase langsam während des Gärprozeses selbst im Gärbottich in Maltose übergeführt wird. Man wählt, um eine rasche Verzuckerung zu erreichen, eine Maischetemperatur zwischen 50 und 55° C, die man gegen Ende des Maischungsprozesses auf 60—65° C steigert. Mit diesen Temperaturen zerstört man die nachverzuckernden Eigenschaften der Amylase nicht, wohl aber tritt eine Tötung schädlicher Mikroben oder mindestens kräftige Behinderung des Wachstums derselben ein. Nunmehr muß die Maische vor dem Anstellen mit Hefe auf die Anstelltemperatur von 11—18° C möglichst rasch heruntergekühlt werden,

wozu besondere, geschlossene Kühlapparate dienen. Die kühle Maische wird nun in den Gärbottich gepumpt; meist während des Überführens in den Gärbottich wird sie einem Entschaler zugeführt, durch den die Hauptmenge von Trebern entfernt wird.

Die nunmehr auf die Anstelltemperatur gebrachte Maische wird nun mit der entsprechenden Menge passender Hefe versetzt. Delbrück präzisiert treffend die Anforderungen des Brennereibetriebes an eine Hefe, indem er schreibt: „Die Brennereihefe muß die Eigenschaft haben, hohe Zuckerkonzentrationen, hohen Alkoholgehalt, hohen Säuregehalt, starke Temperatursteigerungen (15—31° C) zu ertragen; sie muß gegen Spaltpilze und ihre Umsatzstoffe unempfindlich sein, sie muß mit einer geringen Luftzuführung zufrieden sein — andernfalls würde sie dem Kahm nicht wiederstehen können; sie muß ferner schnell arbeiten, hauptsächlich vermöge starker Sproßkraft."

Um einerseits den Forderungen der möglichsten Reinerhaltung der Hefe selbst und der sicheren Unterdrückung von Nebenprozessen gerecht zu werden und anderseits eine den Ansprüchen der Brennerei im höchsten Maße genügende Hefe zu erhalten, bereitet man die sog. „Kunsthefe". Die Grundlage für die Kunsthefebereitung bildet wieder die stete Verwendung einer Reinkultur der Hefe selbst. Den absoluten Ausschluß jeder Verunreinigung im Verlauf der Gärung kann der technische Betrieb nicht erreichen. Dementsprechend wird man die für die betreffende Hefe günstigsten Lebensbedingungen zu schaffen trachten. Danach gibt es mehrere Verfahren der Kunsthefebereitung, von denen das „Milchsäureverfahren" wohl das verbreitetste ist. Im wesentlichen besteht dasselbe aus drei Hauptphasen. Die erste Phase beinhaltet die Herstellung des geeigneten Nährbodens für die Reinhefe, den man als Hefengut oder Hefensatz bezeichnet. Zur Bereitung des Hefengutes benützt man heute sowohl in der Kartoffel- als auch in der Getreidebrennerei die Rohmaterialien der Hauptmaische, indem man dazu einen Teil derselben mit einem Zusatz einer geringen Menge besonders sorgfältig zerquetschten Grünmalzes verwendet. Dadurch fördert man die volle Verzuckerung des Hefengutes und schafft den Hefen selbst durch die im Grünmalz eingebrachten Proteine besonders günstige Stickstoffquellen. Die Hefenmaische wird nun wieder erwärmt, wobei als Abmaischtemperaturen 63—65° C erreicht werden. Nunmehr folgt als zweite Phase die Säuerung des Hefengutes. Dazu eignet sich besonders die Milchsäure, die man bei diesem Verfahren zweckmäßig durch eine mit bestimmten Milchsäurebakterien erregte Milchsäuregärung in einer Menge erzeugt, die ca. 7,5—10 ccm Normalalkali in 100 ccm Maischefiltrat entspricht. Als Kulturmilchsäurebakterien für diese Säuerung haben sich der Bacillus acidificans longissimus Lafar und der Bacillus Delbrücki Leichmann ausgezeichnet bewährt und in die Praxis eingebürgert. Beide Arten sind übrigens sicher sehr nahe verwandt, wenn auch nicht identisch. Die Säuerung wird bei einer Temperatur zwischen 50 und 55° C. durchgeführt. Jedenfalls sind Temperaturen unter 50° streng zu vermeiden, um jedes Wachstum von Buttersäure- und wilden Milchsäurebakterien auszuschließen.

Nach vollzogener Säuerung wird die Hefemaische zur Tötung der Milchsäurebakterien auf 75—80° C aufgewärmt und verbleibt bei diesen Temperaturen 10—20 Minuten. Dadurch vermeidet man eine Nach-

säuerung der Hauptmaische. Höhere Temperaturen anzuwenden ist unzweckmäßig, weil durch dieselben eine Koagulation der Eiweißkörper eintreten würde, was eine Verschlechterung des Nährbodens für die Hefe zur Folge hätte.

Nunmehr folgt eine möglichst rasche Wiederabkühlung des Hefengutes auf 29° C. Jetzt wird die Reinhefe zugesetzt, die man auch als Mutterhefe bezeichnet. Es wird nach der Beimpfung weiter auf 12—17° C heruntergekühlt. Diese Abstelltemperatur hat sich im allgemeinen als zweckmäßig erwiesen, um eine zu rasche Alkoholbildung zu vermeiden. Die nunmehr einsetzende Hefevermehrung unter starken Gärungserscheinungen führt zu einer ausgiebigen Wiedererwärmung des Hefengutes, die aber 28—29° C nicht überschreiten darf. Der Reifegrad der Hefe ist in ungefähr 24 Stunden erreicht. Zu dieser Zeit wird für die Herstellung weiterer Kunsthefe die Mutterhefe abgenommen.

Im Laufe der Zeit wurden noch andere Kunsthefeverfahren ausgearbeitet, bei denen die Säuerung mit technischer Milchsäure, also unter Ausschaltung lebender Milchsäurebakterien, vorgenommen wird. Man versuchte auch mit Erfolg den Ersatz der Milchsäure durch kleine Buttersäuremengen und die Verwendung einer Kombination von Milch- und Buttersäure. Auch die Anwendung von Mineralsäuren, insonderheit Schwefelsäure, fand in die Praxis Eingang.

Die reife Kunsthefe dient nun zum Anstellen der Hauptmaische, nachdem sie auf 30° C abgekühlt worden ist. Unter inniger Vermischung findet noch eine weitere Abkühlung bis zur eigentlichen Gärtemperatur statt. Der Hefensatz bringt also in die Hauptmaische einerseits Milchsäure und Alkohol als Antiseptika gegen Bakterien und wilde Hefen und andererseits kräftige, gut sprossende und vergärende, reine Hefen.

Auch im Brennereibetrieb hat sich die Verwendung von Hefereinkulturen als äußerst zuverlässig erwiesen. In großen Betrieben züchtet man daher die Hefe selbst rein und erzeugt in besonderen Apparaten das Hefengut, während kleine Betriebe ihren Bedarf an Reinhefe durch deren Bezug aus Hefezuchtinstituten decken. Die Art der Rohstoffe sowohl als auch die Gärführung haben zur Folge, daß die in der Brennerei und der später zu besprechenden Preßhefefabrikation in Verwendung stehenden Reinzuchtapparate etwas von den in der Brauerei üblichen abweichen.

Jacquemin hat wohl als erster im Jahre 1892 bei der Vergärung der Rübenmaischen im Großbetrieb reine Hefenrassen angewendet, indem er Propagierungsapparate baute, die eine kontinuierliche Vermehrung von Reinhefen mit Sicherheit zuließen. Die ersten Apparate erforderten aber jedesmal für die Züchtung der ersten Hefe die Zugabe frischer Reinkultur, so daß die gleichzeitige Aufstellung von Laboratoriumsreinzuchtapparaten notwendig war.

In Figur 152 ist die Konstruktion des neueren Jacqueminschen Reinzuchtapparates wiedergegeben. Ohne auf die Maßverhältnisse einzugehen, sei nur das Wesentlichste hier angeführt.

Als Propagierungsapparate dienen Kupferzylinder, von denen die kleineren (*E E'* Fig. 152) für die erste Hefe und die größeren (*F F'*) für die Aufnahme der zweiten Hefe bestimmt sind. Diese Propagierungsgefäße sind untereinander durch hahntragende Rohre verbunden. Außerdem haben sie einen Anschluß für Luft (*L*) und Dampf (*r*) mit

dem im Innern montierten gelochten Kranz. Im wesentlichen tragen die gewölbten Deckel dieser Gefäße einen Füllansatz für die Maische,

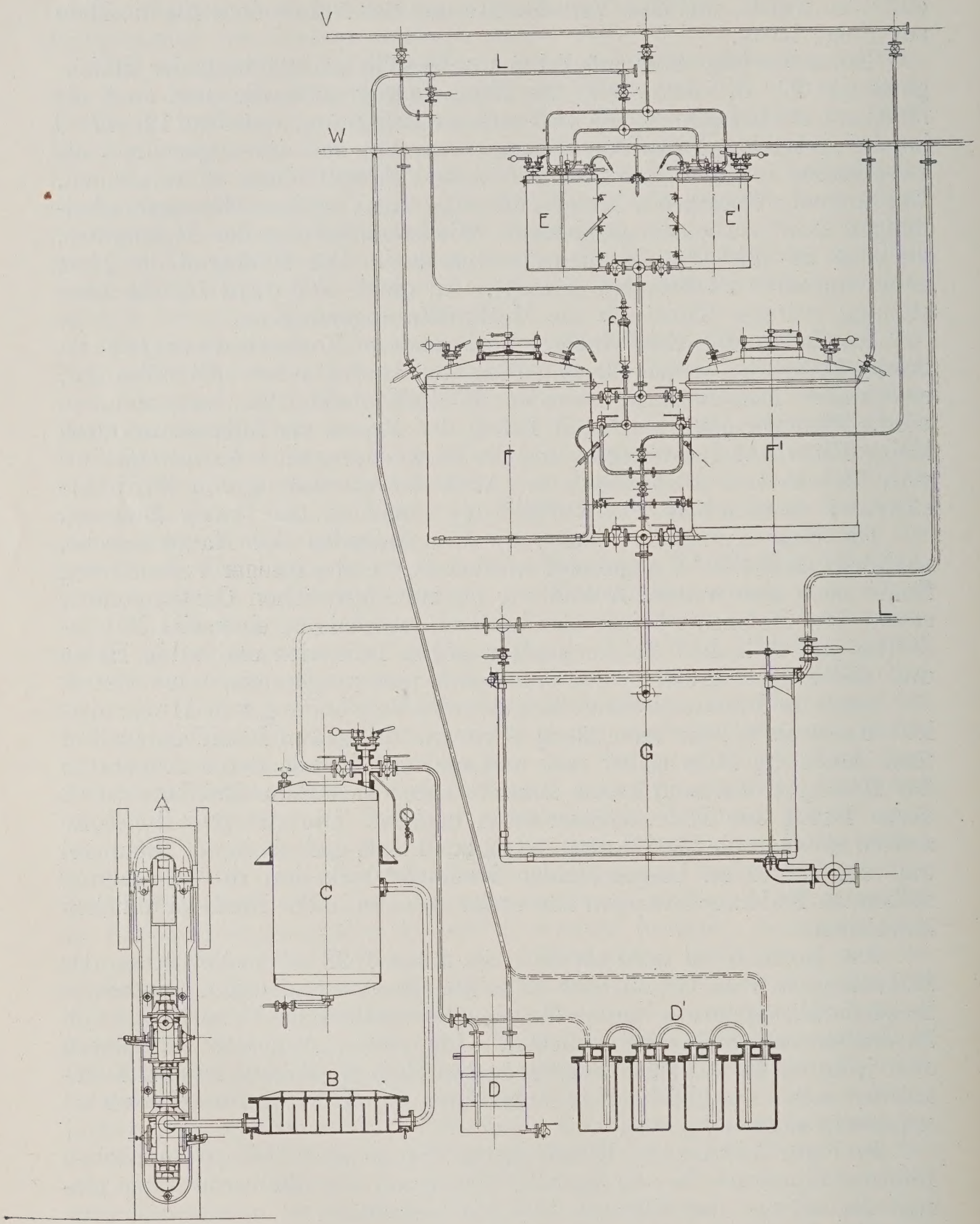


Fig. 152.

eine verschließbare Öffnung zur Impfung, dann ein Luftventil, gleichzeitig zum Austritt der Kohlensäure, ein Sicherheitsventil zur Ausgleichung etwa entstehender zu hoher Innendrucke und eine geräumige

Putzöffnung, die durch Bügelverschlüsse geschlossen wird. Seitlich tragen die Gefäße Thermometereinsatzstutzen. An dem oberen Deckelrand ist außen ein gelochter Rohrkranz herumgelegt, der mit der Wasserleitung (*W*) verbunden ist. Er dient zur Außenberieselung der Gefäße zwecks Kühlung. An die großen Gefäße *F* und *F'* ist der Vorgärbottich *G* durch eine Rohrleitung angeschlossen, dessen Inneres ebenfalls an die Luftleitung gelegt ist und am Boden einen Lüftungskranz besitzt. Auch die Außenberieselungsvorrichtung zwecks Kühlung ist angebracht.

Als Nebenapparate sind mit diesen eigentlichen Zuchtgeräten noch ein Luftkompressor *C* mit der zugehörigen Luftpumpe *A* und dem zwischen letzterer und dem Kompressor eingebauten Luftfilter *B* verbunden. Letzteres besteht, wie die Zeichnung andeutet, aus auswechselbaren Watteeinlagen in einem Metallgefäß. Auf eine vollkommene Entkeimung der den Zuchtapparaten zugeführten Luft muß besonders gesehen werden. Deshalb ist zwischen den Kompressor und den Gefäßzuleitungen noch eine gemeinsame Luftreinigungsvorrichtung eingeschaltet. Dieselbe bestand früher aus einer Flaschenbatterie *D'*, bestehend aus vier innen verbleiten Eisengefäßen mit den dichten Rohreinsätzen, wie sie für Gaswaschflaschen gebräuchlich sind. Die erste Flasche von links nach rechts blieb leer, die zweite erhielt eine Schwefelsäurefüllung, die dritte blieb leer, und die letzte bekam eine Füllung mit starker Sodalösung. Später wurde diese Waschbatterie bei dieser Einrichtung durch ein einziges Gefäß *D* ersetzt, das mit Porzellankügelchen und einer Borsäurelösung gefüllt wurde. Zur größeren Sicherheit vor jeder noch möglichen Luftinfektion brachte man überdies Wattefilter vor der Lufteinströmungsöffnung am Propagiergefäß selbst an.

Vor der Füllung mit Maische wurden die Gefäße kurz ausgedämpft. Die kleineren Gefäße *E* und *E'* erhalten dann die Füllung mit verdünnter gesäuerter Maische bis zu $^2/_3$ ihres Inhaltes. Hierauf wird die Maische Durch Dampf sterilisiert und bei ununterbrochener Lüftung auf die Impftemperatur durch Wasserberieselung der Außenwände heruntergekühlt. Nunmehr wird das eine kleine Gefäß durch den Impfstutzen mit Laboratoriumsreinhefe infiziert. Bei entsprechender Lüftung wird die Hefemaische auf die Hälfte vergoren. Nunmehr wird von dieser Mutterhefe ein kleiner Teil durch leichten Luftdruck in den zweiten Propagierzylinder *E'*, der mit steriler, gelüfteter und gekühlter Maische vorbereitet ist, hinübergedrückt. Die übrige Menge dient dann zur Anstellung der ebenso vorbereiteten Maische in dem großen Gefäße *F*. *E* ist also entleert, wird gereinigt, neuerlich mit Maische beschickt wie oben angegeben und schließlich von *E'* her mit Hefe beimpft, während der Rest des Gefäßes *E'* zur Anstellung von *F'* dient. Inzwischen ist die Hefenmaische in *F* vergoren bzw. die Hefe gereift und wird von dort in den mit Maische versehenen Vorgärungsbottich befördert. Der Inhalt desselben ist in meist 6—10 Stunden bei entsprechender Lüftung reif und dient zum Anstellen der Hauptmaische. So wiederholt sich fortwährend von *E* und *E'* ausgehend die Propagierung der Reinhefe in einem Zuge. Dem Betrieb wird also kontinuierlich reine Hefe bzw. Hefemaische zugeführt.

Bei dem Reinzuchtapparat von Bendixen ist ein einziges, größeres Gefäß als Sterilisator und Propagierungsgefäß verwendet, das mit

einem Hefesammler derart verbunden ist, daß in einem bestimmten, einstellbaren Zeitpunkt der Gärung automatisch durch den entstehenden Kohlensäuredruck die Füllung des Hefesammlers erfolgt. In Figur 153 ist der Apparat halbschematisch wiedergegeben. Der Gär- und Sterili-

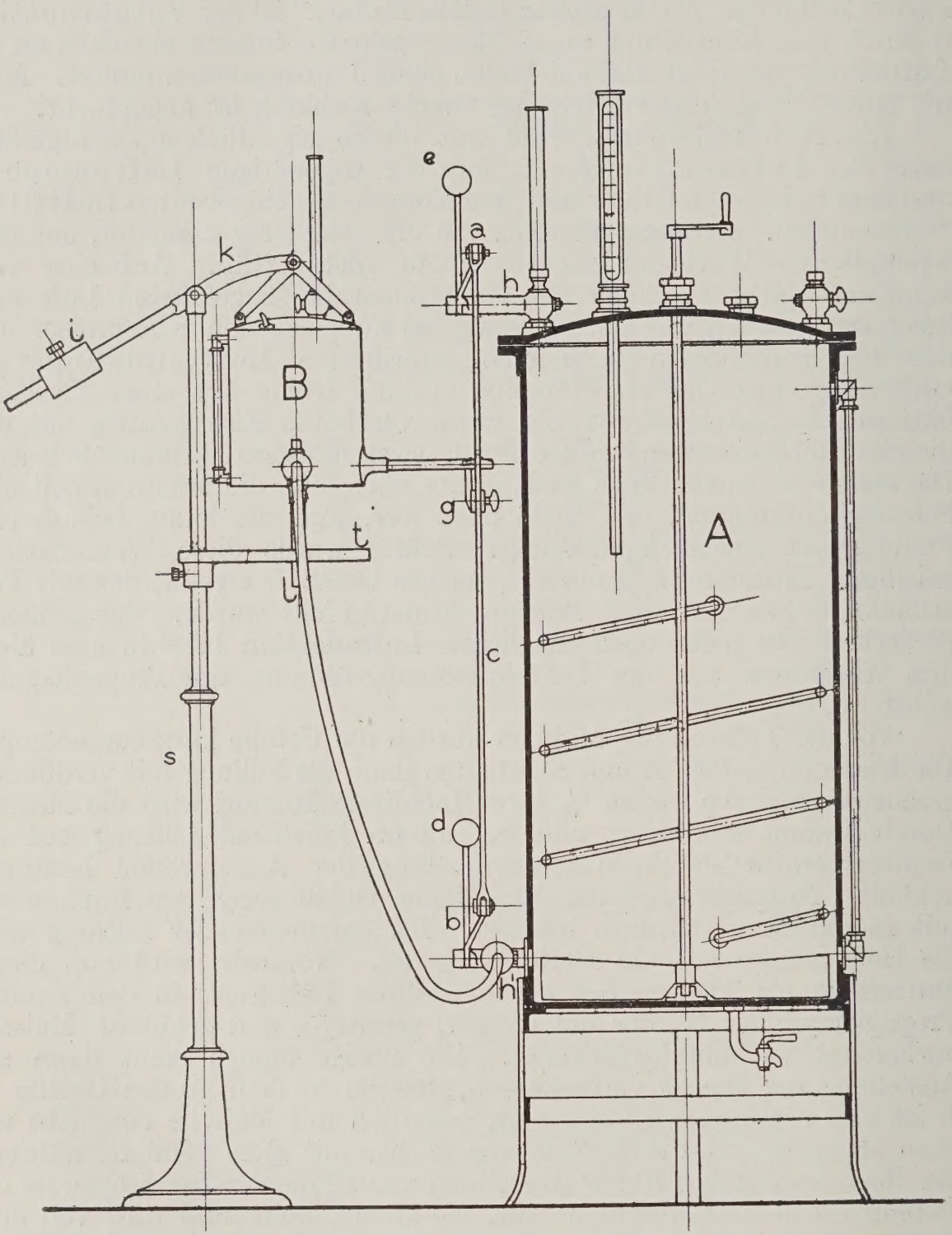


Fig. 153.

sierungszylinder *A* ist mit einer Dampf- und Lüftungsschlange, einem Rührwerk und den üblichen Armaturen ausgestattet. Der Lüftungs- bzw. Kohlensäureableitungsstutzen trägt einen mit einem Hebelwerk *a* in Verbindung gebrachten Hahn, der mit einem ähnlich gestalteten und mit einem Hebelwerk versehenen Hefeauslaßhahn *h'* durch eine

Zugstange *c* gekoppelt ist. Die Einstellung ist so getroffen, daß bei offenem Hahn *h* der Hahn *h'* geschlossen ist und umgekehrt. An den Propagierungszylinder ist der Hefesammler *B* durch eine Schlauchleitung mit dem früher erwähnten Hahn *h'* angeschlossen. Das ohne Rührwerk, nur mit Luft- und Heizschlange ausgestattete Hefesammelgefäß ist mittels des Doppelhebels *k* an dem Stativ *s* aufgehängt, wobei das verstellbare Gegengewicht *i* das Gewicht des armierten Sammlers ausbalanciert. Letzterer ist durch den Stab *l* im Tischchen *t* des Stativs in seiner Bewegung geführt. Er trägt einen gabelförmigen Ansatz, der bei *g* einstellbar an die Zugstange der Hähne *h* und *h'* angreift. Nachdem das Propagierungsgefäß sterilisiert, mit Hefemaische beschickt und letztere wieder sterilisiert und gekühlt ist, wird sie mit der Hefereinkultur geimpft. Durch die Zugstange ist der Kohlensäureauslaß *h* geschlossen, daher der Hefeauslaß *h'* offen, wobei der angeschlossene Hefesammler den höchsten Stand einnimmt. Die infolge der Gärung entstehende Kohlensäure kann nicht entweichen und sammelt sich im Gärzylinder. Der entstehende Druck treibt die sich am Boden sammelnde Hefe so lange in den Hefesammler, bis dessen Gewicht das Gegengewicht übertrifft. Er sinkt herunter und führt dadurch auch mit seinem Gabelstück *g* die Zugstange *c* mit, die jetzt den Hefeauslaßhahn schließt und gleichzeitig den Kohlensäureauslauf öffnet. Die Kohlensäure kann nun frei abströmen. Im Hefesammler ist die Mutterhefe aufbewahrt. Die Hefe desPropagierungsapparates *A* wird nun dem Betrieb zugeführt, der Apparat neu mit Maische beschickt und letztere durch Überleiten der früher gewonnenen Mutterhefe aus dem Hefesammler angestellt. So ergibt sich ein kontinuierlicher Betrieb, bei dem automatisch der Hefensammler aus jedem Satz die Mutterhefe für die folgende Anstellung erhält und aufbewahrt. Erst wenn sich eine Verunreinigung eingeschlichen hat, wird der Hefesammler vollständig gereinigt bzw. neu sterilisiert und eine Impfung im Gärzylinder mit einer frischen Hefenreinkultur vorgenommen.

Barbet hat einen Reinzuchtapparat gebaut, der eine besonders gute Lüftung der Hefe gestattet. Figur 154 zeigt denselben. Das Propagierungsgefäß *P* enthält in seinem oberen Teil eine Garnitur von horizontalen Platten *A* mit erhöhtem Rand, der abwechslungsweise als Überlauf gezahnt ist. Die Randhöhe ist so gewählt, daß sich eine höchstens 20 mm hohe Flüssigkeitsschicht ständig über die Platten bewegt. Der untere Sammelraum ist an den Verteiler *C* angeschlossen. Er besteht im wesentlichen aus einem Satz von längeren, nur ca. 15 mm im Durchmesser betragenden Kupferrohren, die in das mit dem Sammelraum verbundene Gefäß *D* eintauchen. In die Rohre wird von unten sterile Luft eingeführt, so daß in den Rohren ständig Blasen aufsteigen und die Flüssigkeit so mitheben. Die Flüssigkeit aus dem Propagiergefäß wird so immer wieder auf die oberste Platte *A* gebracht, passiert dann nacheinander alle Platten infolge der Überläufe und gelangt wieder in den Sammelraum von *P*. Die Luft mit der Kohlensäure bestreicht ebenfalls alle Lüftungsetagen und strömt bei *E* ab. Um die Temperatur im Verteiler regeln zu können, ist er mit einer Leitung für kaltes und warmes Wasser ausgestattet, die bei *F* ausgeschlossen ist. Fernbach hat speziell für Spiritushefen einen Reinzuchtapparat gebaut, den Figur 155 wiedergibt. Diese Einrichtung setzt sich im wesentlichen aus drei kupfernen, innen verzinnten Gefäßen zusammen, dem Hefenerzeuger *A*, dem Sterili-

sator *B* und dem Hefensammler *C*. Der Hefenerzeuger hat für die Dampf- und Luftzuführung einen gezackten Kranz *Z*, vom tiefsten Punkt *G* ausgehend ein Hefeabzugrohr *P*, dann ein Füllrohr *H* und einen Entlüftungsstutzen *O*. Zur Kühlung des Inhaltes ist ein doppelwandiger Zylinder *Q* mit Querwänden im Innern angebracht, durch den Wasser

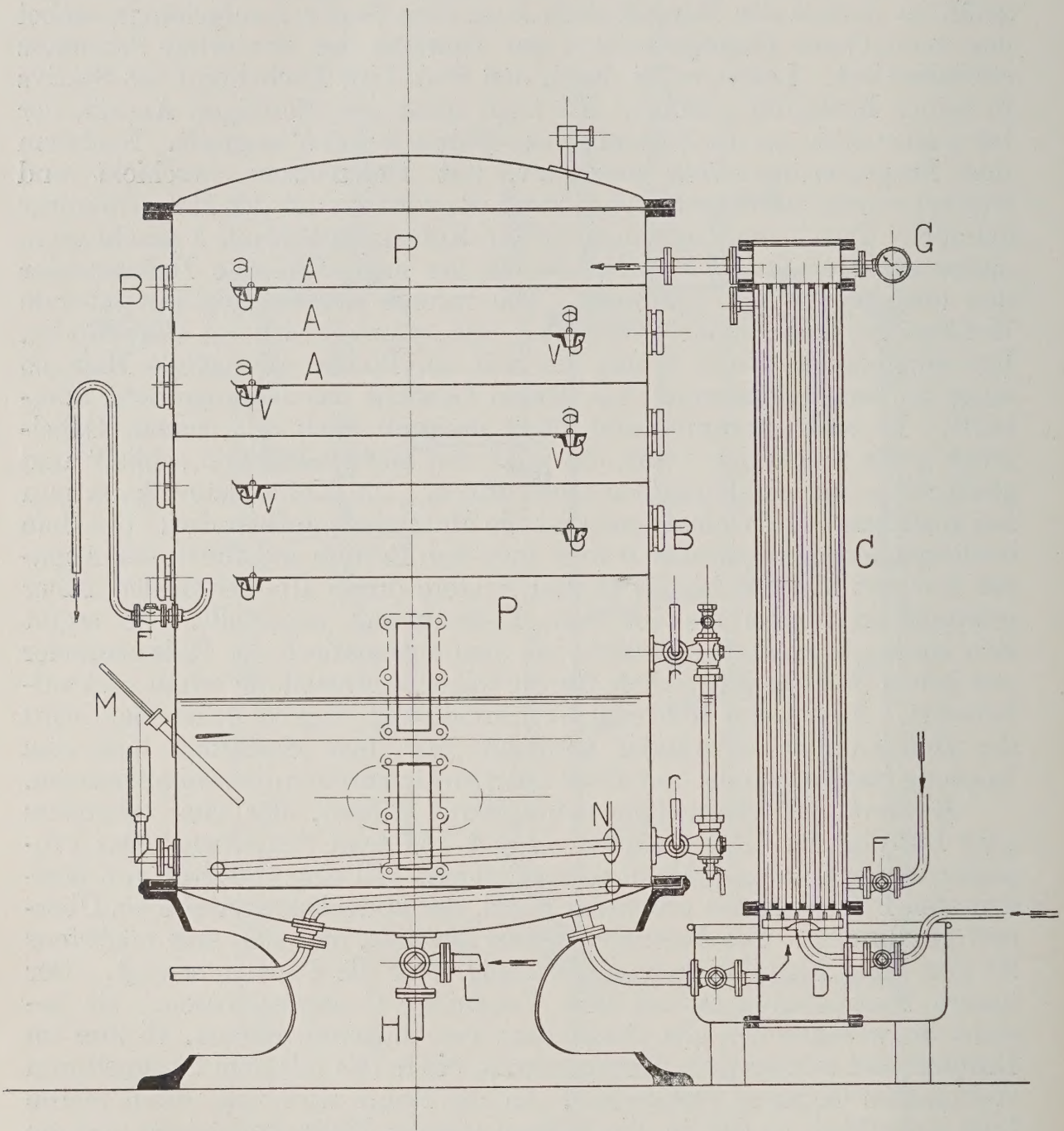


Fig. 154.

geleitet wird. Bei *G* mündet ein Ablaufrohr mit dem daran angebrachten Anzeiger für den Flüssigkeitsstand. Außerdem trägt *A* seitlich einen Thermometerstutzen. Der Sterilisator *B* ist bis auf den Luft- und Dampfverteiler und Thermometerstutzen, welche fehlen, gleich gebaut. Der Hefensammler *C* trägt am Boden einen Ablaufstutzen *V*, oben am Deckel einen Luftauslaß *J* und ein bis knapp zum Boden ragendes Rohr *D* mit Schlauchansatz. Die Ansätze *1* und *2* sind aus Glas und als Wattefilter ausgebildet. Alle Rohrverbindungen werden durch Kautschuk-

schläuche bewerkstelligt. Für den Gebrauch werden die Gefäße *A* und *B* mit siedender Hefenmaische beschickt und hierauf die ganze Einrichtung samt allen Schlauchverbindungen hintereinander mit Dampf sterilisiert, wobei zuerst das Gefäß *C*, dann *B* und zum Schluß *A* durch entsprechende Stellung der Hähne gedämpft wird. Nach Wiederabkühlung wird der Inhalt von *A* durch den Stutzen *O* mit Reinhefe beimpft. Sobald die Hefe reif ist, wird sie zum größten Teil in den Hefesammler *C* übergeleitet. Die klare Flüssigkeit aus *A* wird abgezogen und auf den Heferest aus dem Sterilisator frische Hefemaische herübergedrückt. Die in *C* gesammelte Hefe kommt in den Betrieb. Während sich in *A* wieder Hefe entwickelt, wird der Sterilisator mit Hefemaische neu beschickt und letz-

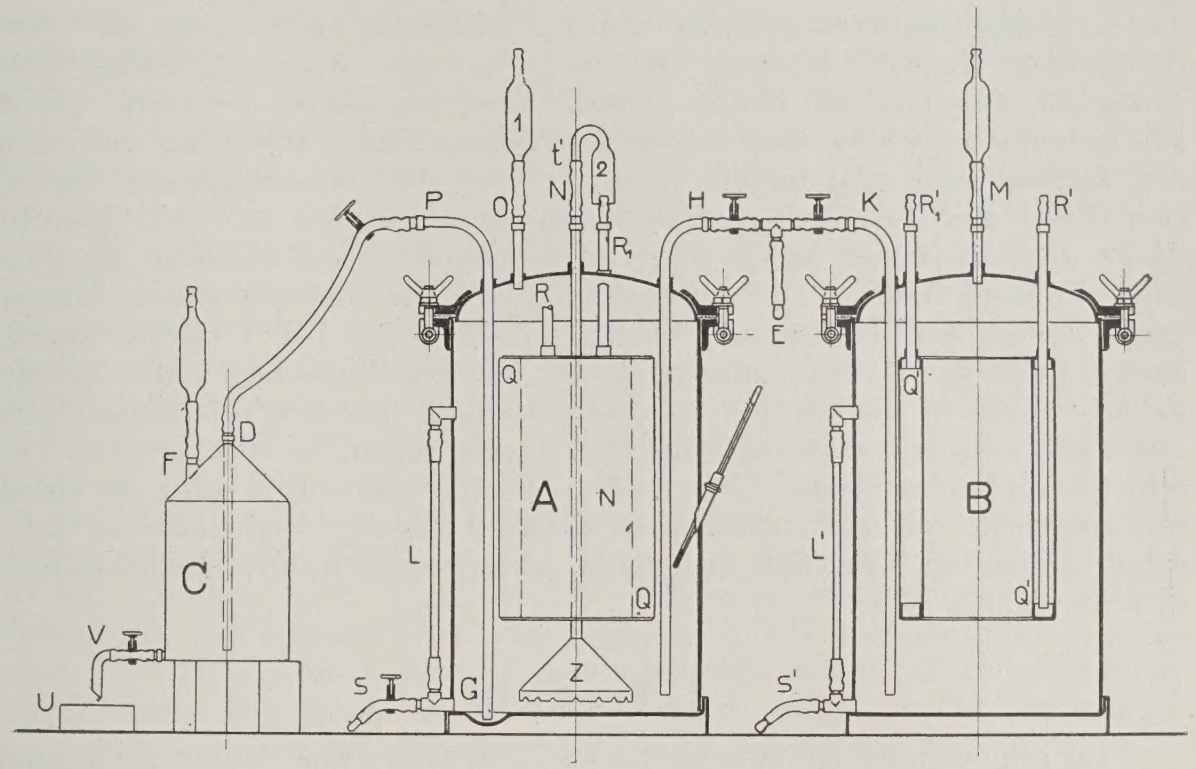


Fig. 155.

tere sterilisiert. So kann ein ununterbrochener Hefezuchtbetrieb ohne neuerliche Beimpfung mit Reinkulturen aufrechterhalten werden.

Auch in der Melassenbrennerei hat sich das Reinhefenverfahren eingebürgert. Die Melassen der Rübenzuckerfabrikation erfordern häufig einige Besonderheiten in der Gärführung, wenn auch vielfach die nur mit Wasser verdünnte Melasse — schon mit Bierhefe angestellt — eine gute oder zumindest genügende Ausbeute an Spiritus ergibt. Störend wirkt meist der hohe Salzgehalt der Melasse, so daß häufig trotz Verdünnung die Gärung nicht eintreten will. Starke Fremdinfektionen mit Bakterien, insonderheit Buttersäurebakterien, sind auch oft die Ursache einer Schwergärigkeit.

Abgesehen von den hohen Kosten der Sterilisation der verdünnten Melassen ist ein langes Kochen der unverdünnten Melassen wegen der Karamelisierung bei der immer vorhandenen alkalischen Reaktion untunlich. Den besten Schutz bei der Gärung in der Melassenbrennerei gibt immer noch die rationelle Verwendung entsprechender Reinhefen,

für deren Zucht in diesem Betriebe sich die früher angeführten Reinzuchtapparate von Jacquemin usw. besonders eignen.

Die zur Destillation gelangenden vergorenen Brennereimaischen und Melassen enthalten neben dem gewünschten Äthylalkohol noch eine Reihe anderer flüchtiger Bestandteile, von denen der Spiritus befreit werden muß. Dazu dienen die in der Spiritusfabrikation jetzt allgemein eingeführten Kolonnenapparate, auf die hier nicht eingegangen werden braucht, da sie mykologisch nichts mehr bieten. Der höher oder niedriger konzentrierte Spiritus kann wegen seiner desinfizierenden Eigenschaften durch biologische Vorgänge nicht weiter verändert werden.

Von mykologischen Betriebsstörungen in der Gärführung bei der Brennerei sei nur auf die sog. Schaumgärung kurz hingewiesen. Bei der Kartoffelbrennerei sammelt sich im Laufe der Gärung an der Oberfläche der Maische in den Gärbottichen eine Schaumdecke, die, wenn sie eine gewisse Größe erreicht hat, sozusagen stationär bleibt. Die sich immer wieder neu bildenden Schaumblasen treten an die Stelle der fortwährend platzenden Blasen. Bei der Schaumgärung ändert sich dieses Bild insofern, als die Blasen nicht platzen und die Schaumdecke deshalb immer höher steigt und schließlich der Schaum über die Bottichwände fließt. Die mikroskopische Untersuchung dieser Massen zeigt neben den Hefen nur Stäbchenbakterien. Die Ursache könnte einerseits in der Zusammensetzung der Maische hinsichtlich des Stärkegehaltes oder in der Größe der Aufschließung der Kartoffelbestandteile und anderseits in den Begleitbakterien liegen, sofern sie eine Art von Verschleimung herbeiführen. Die erhöhte Konsistenz würde dann zu einem festeren, nicht zusammensinkenden Schaum führen. Jedenfalls ist dabei an die genannten Ursachen zu denken, wenn immer die gleiche Hefenmasse in Verwendung steht.

4. Preßhefe.

Im allgemeinen ist Preßhefe eine obergärige, auf Würze gezüchtete Hefe. Im wesentlichen sind bei deren Gewinnung zwei Verfahren im Gebrauch; nach dem „Wiener Verfahren“ wird die Preßhefe durch Abschöpfen der Oberhefe mit dem auf der Maische sich ansammelnden Schaum gewonnen, während beim „Lüftungsverfahren“ die Hefe in geläuterter Maische gezüchtet und durch Absitzenlassen oder Ausschleudern erhalten wird. Bei beiden Verfahren wird die gewonnene Hefe zuerst gewaschen und dann zwecks Entfernung des Waschwassers gepreßt.

Die Preßhefeerzeugung ist nicht sehr alt, denn ihre Geschichte reicht etwa bis zum Jahre 1800 zurück. Preßhefe wurde zuerst in Deutschland erzeugt. Im Jahre 1847 wurde die Preßhefefabrikation durch Julius Reininghaus in Österreich eingeführt nnd in Wien zum Abschöpfverfahren ausgebildet. Daher stammt auch der Name „Wiener Verfahren“. Heute geht man im Großbetrieb immer mehr zum Lüftungsverfahren über, das in Deutschland in den achtziger Jahren Eingang gefunden hatte.

Beim Wiener Verfahren finden in erster Linie stickstoffreiche Maischen Verwendung, zu denen kleinkörniger Roggen, Mais, Buchweizen, dann auch Kartoffeln, niedrig abgedarrtes Gerstenmalz

oder Grünmalz als Rohstoffe dienen. Überdies wird manchmal auch „Schlempe“ verwendet. Als „Schlempe“ bezeichnet man vergorene Maische, der durch Erhitzen der Alkohol entzogen worden ist. Die Schlempe ist an sich schon milchsäurehaltig, weshalb bei ihrer Verwendung die Säuerung vor dem Anstellen mit Hefe entfällt.

Zur Herstellung der Maische wird das Getreide fein geschrotet und mit Wasser bei 44—50° C eingeteigt. Die Maische bekommt dann einen Malzzusatz zwecks Verzuckerung der aufgeschlossenen Stärke, wobei man die Temperatur auf 61—63° durch zwei Stunden erhält. Nun wird die Maische entweder mit Schwefelsäure oder durch eine milchsaure Gärung gesäuert, wie es früher bei der Brennerei beschrieben worden ist. Man wählt nur hier meist eine etwas höhere Säuerungstemperatur, um auch eine genügende Aufspaltung der Eiweißkörper zu erreichen. Diese werden dadurch für die Hefe erst besonders zugänglich. Eine Aufwärmung über 70° zwecks Sterilisation der Milchsäurebakterien unterläßt man bei diesem Verfahren. Die nunmehr fertige Maische wird auf die Anstelltemperatur heruntergekühlt und gelangt in die Gärbottiche. Bei kurzer, etwa zehnstündiger Gärführung ist die Anstelltemperatur 22,5—25°, für eine längere Vergärung von 24 Stunden beträgt sie 16 bis 20° C. Nunmehr wird die Maische entweder mit gewaschener Preßhefe angestellt oder mit Kunsthefe, für deren Gewinnung ungefähr die gleichen Maßnahmen üblich sind wie bei der Brennerei. Es setzt nun alsbald eine stürmische Gärung ein, wobei sich die obergärige Hefe an der Oberfläche mit den Trebern gemischt ansammelt. Der „reife Hefeschaum“ wird nun abgeschöpft. Die Reife ist daran erkenntlich, daß der Schaum am Rande des Gärgefäßes und in der Mitte zusammenzufallen beginnt. Die Gärdauer beträgt je nach der gewählten Temperatur 10—24 Stunden. Die abgeschöpfte Hefe wird mit Sieben in kaltem Wasser von den Trebern befreit und dann in mit Wasser gefüllten Absetzgefäßen bei 10° C drei Stunden absitzen gelassen, worauf sie in besonderen Filterpressen abgepreßt wird. Die Maische wird gewöhnlich weitergären gelassen und auf Alkohol oder Branntwein verarbeitet.

Das Lüftungsverfahren unterscheidet sich von dem geschilderten hauptsächlich darin, daß einerseits die Hefe durch Lufteinblasen dauernd in Bewegung versetzt ist und anderseits als Nährboden eine geläuterte Würze verwendet wird. Die Herstellung der Maische ist im wesentlichen gleich derjenigen beim alten Verfahren, nur treibt man die Verzuckerung möglichst weit. Dann kühlt man auf 55—58° C, versetzt die Hauptmaische mit der in der gesäuerten Maische angereicherten Reinkultur von Bacillus Delbrücki. Nach genügender Säuerung der Hauptmaische wird diese nochmals auf 64—70° C zur Abtötung der Milchsäurebakterien erhitzt. Dann wird die Maische geläutert und klar in die Gärbottiche gebracht. Diese enthalten unten Luftverteilungsrohre, durch die sterile Luft eingeblasen wird. Die Anstellung mit Kunsthefe verläuft meist bei 20—25°. Die zugeführte Luft bewegt das ganze Gärgut. Auch werden dadurch die Vermehrungsbedingungen für die Hefe sehr günstig, da eine ständige Verteilung der Nährstoffe und Stoffwechselprodukte erfolgt. Man richtet die Gärführung so ein, daß die Gärung, hier maximale Hefevermehrung, in acht bis zwölf Stunden beendet ist. Die reife Hefe ließ man früher auf Kühlschiffen sich absetzen; dadurch steigt aber die Infektionsgefahr bedeutend. Heute benützt man zur Trennung

der Hefe von der Maische fast ausschließlich Separatoren mit Zentrifugalwirkung.

Bei den für die Preßhefeerzeugung in Frage kommenden Hefen handelt es sich durchwegs um obergärige Saccharomyzeten, von denen in erster Linie Reinheit und gutes Vermehrungsvermögen neben einer entsprechenden Säurefestigkeit verlangt werden muß. Die erzeugte Preßhefe muß eine große Triebkraft besitzen, bzw. eine gute Teigung auslösen. Die Farbe der Preßhefe muß rein weiß oder leicht gelblich, ihr Geschmack rein sein. Wie bei der Brennerei handelt es sich bei diesen Hefen um Rassen mit der Eigentümlichkeit der großen Vermehrungsfähigkeit und gewissen angezüchteten Eigenschaften, wie Haltbarkeit, Triebkraft, Farbe usw. Im allgemeinen sind die Brennereihefen auch für Preßhefe meist brauchbar. Nach Henneberg eignen sich übrigens Gemische von Reinhefen, von denen die einzelnen Komponenten ganz besondere Eigenschaften aufweisen, ausgezeichnet.

Trotz der größten Vorsicht im Gärbetrieb gibt es immer noch reichlich Infektionsmöglichkeiten, die zu Störungen führen und Krankheiten des Produktes verursachen können. In der Lufthefefabrikation stellt sich oft ein Schaum im Gärbottich ein, der auffallend weiß, flockig und hefereich ist. In diesen Fällen handelt es sich meist um eine Infektion mit Kahmhefen. Unter diesen Umständen kann die Preßhefe bis zu 80% Kahmhefen enthalten, wodurch sie ihre Eignung für die Bäckerei zum großen Teil einbüßt. Auch eine Infektion mit Saccharomyces exiguus Hansen ist keine Seltenheit. Es handelt sich dabei um eine kleine eiförmige Hefenart, die zuerst von Hansen aus Preßhefe isoliert worden ist. Sie zeichnet sich durch geringe Sporenbildung und mäßige Hautbildung auf Flüssigkeiten aus. Außerdem stellen sich bei der Preßhefefabrikation noch viele andere wilde Hefen ein. Daneben spielen aber auch bakterielle Infektionen eine wichtige Rolle, die meist auf wilde Milchsäurebakterien zurückgehen. Obenan stehen hier Schädigungen durch die Flockenmilchsäurebakterien, die durch eine verhältnismäßig große Säureempfindlichkeit ausgezeichnet sind und höhere Temperaturen bevorzugen. Sie verkleben förmlich die Hefezellen untereinander, so daß es sogar zu einem völligen Fehlen des Hefeauftriebes kommen kann. In diesem Fall entsteht kein Hefeschaum, während sämtliche Hefen zu größeren und kleineren Ballen zusammengebacken sind. Diese Erscheinung verschwindet bei Verwendung höher gesäuerter Maische, wobei darauf Bedacht zu nehmen ist, daß die treberreiche Getreidemaische, wie sie beim alten Verfahren verwendet wird, zur Unterdrückung eine größere Säuremenge verlangt als eine klar filtrierte Maische, wie sie das Lufthefeverfahren verwendet.

Neben den durch biologische Verhältnisse geschaffenen Betriebsstörungen können aber solche auch durch chemische Einflüsse entstehen, was in erster Linie bei der Flockenbildung der Hefe zu berücksichtigen ist. So können besonders die stark dissoziierten Säuren Agglutination der Hefe, also Flockenbildung, verursachen. Man wird wohl annehmen dürfen, daß es sich dabei um eine Wirkung der Wasserstoffionen auf die Hefe handelt.

5. Rumbrennerei.

Den Rum liefern die bei der Rohrzuckerherstellung entstehenden Abfälle durch eine alkoholische Gärung. Zum Unterschied vom Arrak, der in vielen Beziehungen dem Rum gleicht, werden aber bei der Herstellung keine stärkehaltigen Hilfsstoffe benützt.

Westindien ist das Hauptland der Rumerzeugung, dort besonders Jamaika, Cuba, Trinidad usw. Auch in dem Westindien gegenüberliegenden Teil Südamerikas wird viel Rum hergestellt, vor allem in Brasilien. Als beste Sorte ist der Jamaikarum weltbekannt.

Zur Bereitung des Rums verwendet man sirupöse Melasse, aus der der Rohrzucker auskristallisiert ist. Diese Melasse enthält neben reichlichem Rohrzucker noch ansehnliche Mengen von Invertzucker und aromatische Stoffe. Sie wird mit Wasser verdünnt, in Fässer oder große irdene Töpfe gegeben. In der verdünnten Melasse stellt sich erst nach einigen Tagen die Gärung ein. Zum Anstellen der weiteren Gärung bei den folgenden Rumansätzen benützt man dann die Hefen der früheren Gärungen. Die vergorenen Massen werden dann destilliert und geben so den Rum. Im großen und ganzen ist über die Rumbereitung, wie sie an den verschiedenen Orten gehandhabt wird, nicht sehr viel bekannt. Man arbeitet nach alten Rezepten, in denen der sog. „Dunder“ eine sehr wesentliche Rolle spielt. Darunter versteht man die bei der Destillation zurückgebliebene Schlempe, eine gelbliche, bitter schmeckende Flüssigkeit. Dieser Dunder soll sorgfältig gesammelt und sogar für die nächstjährige Campagne sorgfältig aufbewahrt werden. Mit Herzfeld können wir vielleicht für die als zweckmäßig erkannte Verwendung dieser Schlempe darin den Grund finden, daß ihr Buttersäuregehalt bei der Esterbildung eine Rolle spielt, weil der Gehalt an alten Hefebestandteilen einen guten Nährboden für die neuen sich entwickelnden Saccharomyzeten abgibt und endlich ihr Säuregehalt eine Azidität in der Rummaische schafft, die das Aufkommen der sehr unerwünschten Essiggärung unterdrückt. Auffallend sind nur die Angaben über den Gehalt des Dunders an Essigsäure- und Buttersäurebakterien, während Angaben über Milchsäure anscheinend fehlen.

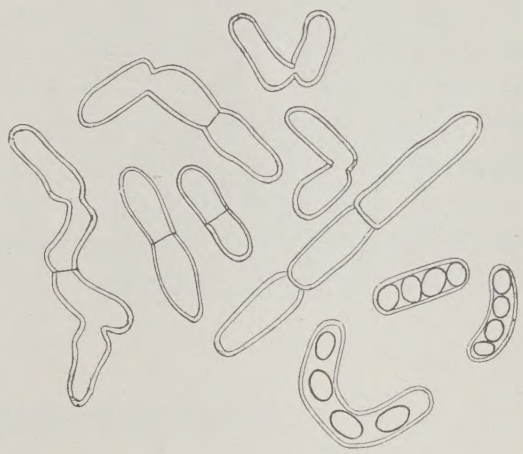


Fig. 156.

Für die Rumgärung wurde eine Spalthefe, der Schizosaccharomyces mellacei Jörgensen, eine Oberhefe, als besonders wirksam angegeben. Figur 156 zeigt diese Hefe im vegetativem und sporulierenden Stadium nach Jörgensen. Sie vermag aber nur geringe Mengen von Alkohol zu bilden, weshalb man notwendig an weitere Hefen denken muß, die ein viel stärkeres Alkoholbildungsvermögen besitzen.

Was die chemische Zusammensetzung des Rums anlangt, zeichnet sich derselbe durch einen hohen Gehalt an Estern aus. Man findet vor-

nehmlich den Äthylester der Ameisensäure, Essigsäure und Buttersäure. Übrigens finden sich diese Säuren in geringer Menge und frei im Rum. Der Alkoholgehalt des Destillates schwankt zwischen 46 und 94%; er wird für den Handel auf eine Stärke von 73—77% gebracht.

Die folgende Zusammenstellung gibt einen Überblick über die Zusammensetzung eines echten Jamaikarums.

Alkohol Vol. %	Extrakt	Höhere Alkohole	Aldehyde	Furfurol	Freie Säuren als Essigsäure	Ester als Essigsäure-Äthyläther
	mg in 100 cc					
61,1	549,4	151,8	13,0	2,3	101,5	870,7

VII. Abschnitt.

Gemischte Gärung durch Hefen und Schimmelpilze.

Bei einigen Brennereiverfahren wird die Verzuckerung der Stärke nicht durch Malzdiastase oder chemische Behandlung herbeigeführt, sondern durch bestimmte Schimmelpilze, während die Gärung des so erhaltenen Zuckers in der sonst üblichen Weise durch Hefe besorgt wird. Dieses sozusagen gemischte Gärverfahren in der Brennerei wird hauptsächlich bei der Bereitung des chinesischen Reisbranntweines, des javanischen Arraks und ähnlicher stark alkoholhaltiger Getränke und endlich bei dem in Europa benützten Amyloverfahren angewendet.

---

1. Chinesischer Reisbranntwein.

Bei der Herstellung dieses, ungefähr 40% Alkohol enthaltenden, in China außerordentlich weit verbreiteten Branntweines verwendet man die sog. „chinesische Hefe", ein Gemisch von Reismehl und zahlreichen Mikroorganismen. Sie kommt in China in Form von talergroßen, weißgrauen, milchigweißen, aromatisch riechenden Kuchen in den Handel, wie sie *1* und *2* der Figur 157 in ungefähr natürlicher Größe zeigen. Diese Kuchen vereinigen Hefe und Malz sozusagen in einem und werden nach verschiedenen recht komplizierten Rezepten hergestellt. Nach Calmettes Berichten erfolgt die Herstellung der chinesischen Hefe in Cochinchina folgendermaßen: Es werden nicht weniger als 45 verschiedene Pflanzen, von denen viele aromatische Stoffe enthalten (Ingwer, Pfeffer, Cardamomen, Zimt usw.), mit Reismehl fein verrieben und gepulvert. Dieses Gemisch rührt man dann mit Wasser zu einem Teig an, aus dem die oben beschriebenen Kuchen geformt werden. Diese kommen aufgelegt in einen dunklen Raum bei ungefähr 30° C. Schon nach zwei Tagen sind sie von einem feinen Mucoreenschimmel überzogen. Sie werden dann an der Sonne getrocknet und sind handelsfertig.

Diese Kuchen enthalten nun sehr reichlich Organismen, wie Schimmelpilze, insonderheit Mucor- und Rhizopusarten, dann Hefen vom Pastorianustypus und endlich auch verschiedene Bakterienarten, die aber zum großen Teil als Schädlinge in Betracht kommen. Es konnten einige sehr amylasereiche Hyphenpilze isoliert werden, von

denen hier in erster Linie Amylomyces Rouxii, Rhizopus Cambodja und verwandte Arten genannt seien. Als Alkoholhefen kommen, wie schon gesagt, solche von Pastorianustypus besonders in Betracht. Außerdem finden sich auch alkoholbildende Hyphenpilze, wie Mucor Praini und Rhizopus Tamari. In *3* der Figur 157 [1]) ist das mikroskopische Bild der chinesischen Hefe von Singapore wiedergegeben, in dem man neben Stärkekörnern reichlich Schimmelpilze sieht.

Mit Hilfe dieser Kuchen stellt man nun die Maische für den chinesischen Reisbranntwein in der Weise an, daß man den entschälten Reis mit etwas

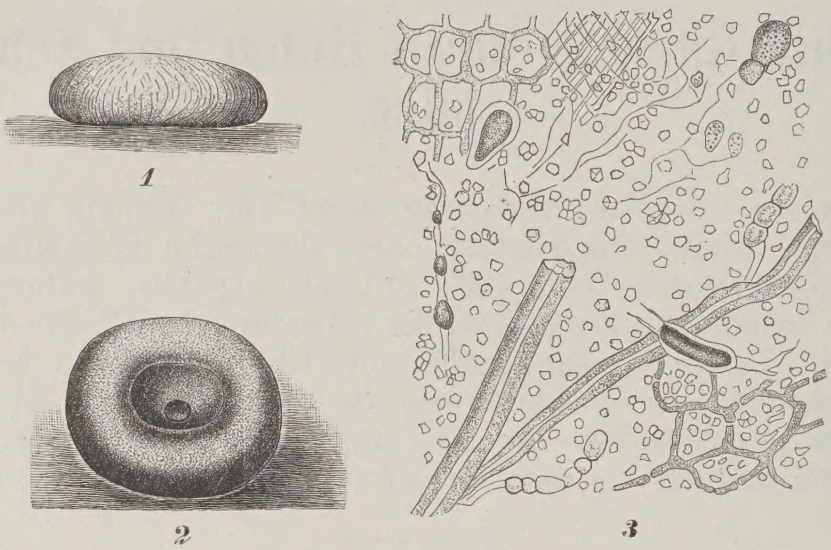


Fig. 157.

weniger als dem gleichen Gewicht heißen Wassers verquellen läßt, nach dem Erkalten die geschwellten Reiskörner in dünnen Schichten ausbreitet und mit den zerkleinerten Hefekuchen bestreut. Es erfolgt nun eine gleichmäßige Durchknetung und Füllung der Masse in größere verschließbare Gefäße, die man etwa zur Hälfte beschickt. Gewöhnlich vollzieht sich unter kräftiger Pilzwucherung die Verzuckerung innerhalb von drei Tagen. Nach dieser Zeit füllt man mit Flußwasser auf, worauf eine stürmische Gärung einsetzt, die ungefähr zwei Tage anhält. Nun wird diese vergorene Reismaische destilliert.

2. Javanischer Arrak.

Die Bezeichnung Arrak ist in Asien für die verschiedenen destillierten Getränke gebräuchlich. Der javanische Arrak wird sowohl aus Reis wie auch als Melassearrak hergestellt. Aber auch im letzteren Falle bedient man sich eines Gemisches von Hyphen- und Hefenpilzen zur Bereitung. Das dabei benützte Gemisch von Organismen in einem Reismehlkuchen bezeichnet man als Ragi. Figur 158 [1]) zeigt uns in *1*

[1]) Figuren 157 und 158 sind dem Handbuche der techn. Mykologie von Lafar, Bd. 5, S. 321 und 325 entnommen.

die als Ragi bekannten Reismehlkuchen in annähernd natürlicher Größe. Die Herstellung derselben geschieht, wie beim chinesischen Reisbranntwein, nach komplizierten Vorschriften. In Buitenzorg pflegt man das Reismehl mit Teilen des Zuckerrohres und zerkleinerten Rhizomen von Alpinia Galanga zu versetzen und dazu noch Zwiebel und Knoblauch zu geben. Dieses Gemisch wird dann mit dem Saft von Citrus limonellus zu einem Teig angerührt und daraus die pfeffernußähnlichen kleinen Hefekuchen geformt. Diese verbleiben dann mehrere Tage an einem feuchtwarmen Orte zwischen Reisstrohlagen oder man knetet unmittel-

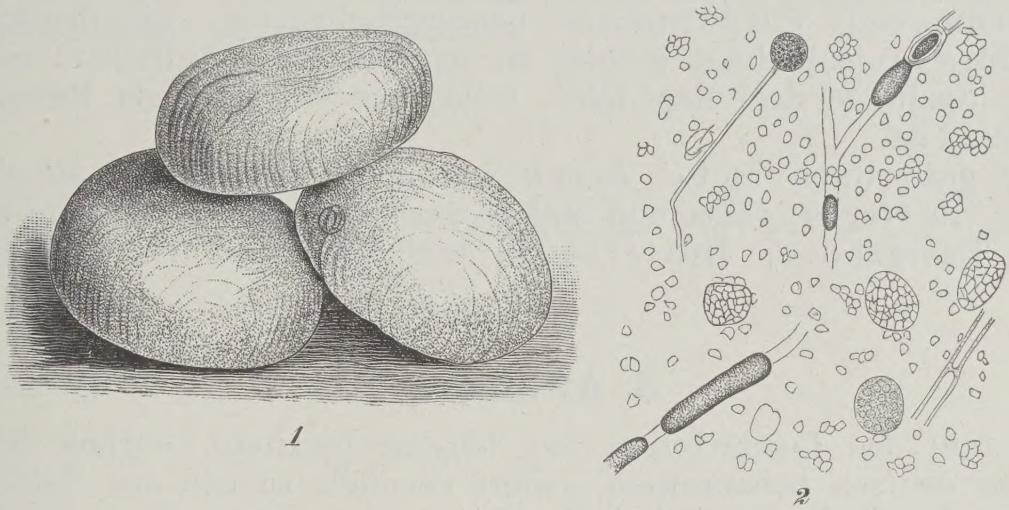


Fig. 158.

bar zerkleinertes Reisstroh hinein. Nach einigen Tagen werden sie an der Sonne getrocknet und sind dann gebrauchsfähig.

Im wesentlichen unterscheidet sich die Flora des Ragi nicht besonders von jener der Kuchen für die Bereitung von Reisbranntwein. In *2* der Figur 158 sehen wir die Pilzvegetationen neben den Stärkekörnchen. Neben Hyphenteilen findet man bei genauer mikroskopischer Untersuchung dieser Kuchen reichlich Gemmen, dann Hefezellen und Bakterien. Bei näherer Untersuchung erweisen sich die Hyphenpilze vornehmlich als Mucoreen. An Hefen beobachtet man mehrere nicht sehr gärfähige Arten. Mit dem Ragi findet dann die Beimpfung der Reismaische statt.

In die Vorgänge bei der javanischen Arrakbereitung aus Melasse haben wir einen besseren Einblick. Gewöhnlich wird die mit Wasser entsprechend verdünnte Melasse mit einem besonderen Produkt, dem Tapej, angestellt, das einen sauren Charakter hat. Die Bereitung des Tapej geht so vor sich, daß in flachen Schalen ausgebreiteter gekochter Reis mit zerkleinertem Ragi bestreut, dann mit Blättern bedeckt und an einem kühlen Orte aufgestellt wird. Innerhalb von zwei Tagen stellen sich reichlich Pilzmyzelien ein. Gleichzeitig verwandelt sich der Reis in eine schmutzig-weiße, halbflüssige Masse von sauersüßem Geschmack. Sie enthält in diesem Stadium 20—30% Zucker. Wahrscheinlich findet in diesem Tapej neben der Spaltung der Stärke und mäßiger alkoholischer Gärung auch eine milch- und essigsaure Gärung statt. Der Tapej wird nun mit kleineren Melassemengen gemischt und

dann erst nach ungefähr zwei Tagen der Hauptmelassemenge in den Gärgefäßen zugesetzt, worauf sich die eigentliche stürmische alkoholische Gärung abspielt. Zwecks Erzielung einer Nachgärung wird der Inhalt der Gärgefäße in kleinere irdene Gefäße abgezogen. Die Nachgärung darin dauert ungefähr acht Tage, worauf die Destillation vorgenommen wird. Nach den vorliegenden Beschreibungen werden übrigens in den verschiedenen Orten andere Verfahren angewendet, wobei man den Tapej in größerer kompakter Masse bereitet und ihn auf Melasse zur Angärung schwimmen läßt und dann erst zerkleinert und portionenweise mit verdünnter Melasse mengt. Der Tapej ist sehr reich an Gärungsorganismen, von denen neben dem Mucor javanicus eine Spalthefe, Schizosaccharomyces Vordermanni hervorgehoben sei, die besonders wegen ihrer Aromabildung wichtig zu sein scheint. Auffallend ist es, daß die Spalthefe dem Ragi fehlt, wohl aber ein ständiger Bewohner der Melasse ist.

Der gute batavische Arrak hat einen Gehalt von 50—58% Alkohol. Er reagiert sauer und enthält geringe Mengen von Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure und Caprinsäure und deren Ester.

---

3. Awamori.

Das auf den Luchu-Inseln seit langem bereitete Getränk Awamori, zu deutsch Schaumwein, gehört ebenfalls zu den aus Reis hergestellten Genußmitteln. Wie beim Sakè wird zuerst ein Koji bereitet, der als verzuckernden Pilz den Aspergillus luchuensis enthält. Im wesentlichen handelt es sich um eine alkoholische Gärung einer durch Awamori-Koji erzeugten Reismaische.

Die Herstellung dieses Getränkes wird nicht im großen betrieben. Es wird gewaschener und geschälter Reis nach Verquellen in Wasser gedämpft und dann auf Strohmatten in einer sog. Kojihütte bei 60 bis 70° C ausgebreitet. Es folgt nun eine Mischung mit dem als „Tane-Koji“ bezeichneten Sporenmaterial des auf Hirse gewachsenen Pilzes. Mit Matten bedeckt, bleibt der Reis nun vier Tage sich selbst überlassen bei 30° stehen. Während dieser Zeit durchziehen die Pilzhyphen den ganzen Reis und die Oberfläche bedeckt sich mit den dunklen Konidienträgern. Hieraus wird der Moromi dadurch hergestellt, daß man diesen Koji in einem großen Gefäß mit Wasser mischt, worauf alsbald eine stürmische Gärung einsetzt, die in der warmen Jahreszeit nach ungefähr 18 Tagen, in der kalten nach 30 Tagen beendet ist.

Außer dem Zuckerpilz scheint als Alkoholbildner der Saccharomyces Awamori neben Vertretern der Gattung Willia in Frage zu kommen.

---

4. Batatenbranntwein.

Im südlichen Japan wird aus der stärkereichen Batateknolle ebenfalls Branntwein gewonnen, wobei die Verzuckerung durch den Aspergyllus oryzae (siehe Seite 269) oder durch sich spontan einstellende wilde Aspergillusarten durchgeführt wird. Der Vorgang der Herstellung des Batatenweines ist im wesentlichen derselbe, wie von Awamori. Man

geht vom Koji aus, den man aus Gerste, Hirse oder Mohrenhirse nach Rösten und Dämpfen dieser Rohstoffe gewinnt. Er ist wegen des angesiedelten Aspergillus Batatae Saito, einem nahe Verwandten des Aspergillus niger, tief braunschwarz gefärbt. Die gedämpften Batatenknollen werden mit dem Koji vermischt und bilden den Moromi. Auch hier findet eine Verzuckerung durch den genannten Aspergillus statt, während die Alkoholgärung auf den Saccharomyces Batatae zurückzuführen ist. Außerdem setzt auch eine Milchsäuregärung ein, die durch ein stäbchenförmiges Bakterium erregt werden soll. Die Gärung dauert 5—7 Tage, worauf man die vergorenen Massen destilliert. Neben den genannten Mikroorganismen finden sich im Koji und in dem Moromi noch zahlreiche andere Organismen.

VIII. Abschnitt.

Entkeimung und Konservierung.

Unter Entkeimung oder Sterilisation im strengsten Sinne des Wortes versteht man die Freimachung eines Gegenstandes oder irgendeines Substrates von jeglicher Art von Organismen. Diese Entkeimung kann nun auf verschiedene Art durchgeführt werden. Man benützt dazu entweder physikalische oder chemische Eingriffe oder endlich beide miteinander. Die Untersuchungsergebnisse über die Sterilisation sind sowohl für technische Betriebe als auch für die Medizin von größter Tragweite. Den eigentlichen Entkeimungsmethoden schließen sich jene Verfahren an, die nicht eine völlige Abtötung jeglicher Organismen in und auf dem betreffenden Stoff zum Ziele haben, sondern nur die Hemmung jeglicher Weiterentwicklung der bereits vorhandenen lebenden Mikroorganismen. Endlich hat sich die Entkeimungslehre auch mit jenen Maßnahmen zu beschäftigen, die das Hinzutreten von lebenden Mikroorganismen zu bereits entkeimten Stoffen verhindern. Wir wissen bereits, daß die organischen Verbindungen, wie sie in den verschiedenen Nahrungs- und Genußmitteln vorliegen, in erster Linie durch kleine Lebewesen in kürzester Zeit in Fäulnis oder Gärung übergehen und so verdorben werden. Die Entkeimungslehre zeigt uns nun jene Mittel und Wege auf, die uns in den Stand setzen, Nahrungs- und Genußmittel und schließlich auch andere zersetzliche Stoffe beliebig lange haltbar zu machen. Die für die Volksernährung so wichtige Konserventechnik fußt auf den durch die Entkeimungsversuche gewonnenen Erkenntnissen und Erfahrungen.

---

1. Die physikalische Entkeimung.

Für die Entkeimung kommen als physikalische Mittel in erster Linie die Wärme, die mechanische Trennung der Organismen vom Substrat durch Filtration und endlich das Licht in Frage.

a) Entkeimung durch Wärme.

Wir haben bereits gehört, daß eine Entwicklung von Bakterien nur innerhalb verhältnismäßig enger Temperaturgrenzen möglich ist. Wenn wir die Temperatur über das „Maximum" erhöhen, so werden nach längerer oder kürzerer Zeit die Mikroben vernichtet. Wir haben also in

der Hitze ein ausgezeichnetes Sterilisationsmittel. Dieselbe kann als trockene Wärme oder als feuchte Wärme angewendet werden. Da für letztere alle Mikroorganismen empfindlicher sind, wird man letztere Form der Sterilisation bevorzugen. In letzter Linie wird für die Wahl der trockenen oder feuchten Hitze die Beschaffenheit des Substrates, das sterilisiert werden soll, ausschlaggebend sein.

Bei der trockenen Sterilisation in der Wärme werden die Substrate in Luft von 150—160° C ein bis zwei Stunden erhitzt. Dies geschieht in besonderen Schränken, den „Heißluftsterilisatoren". Dieser Behandlung können nur feste, trockene Körper, Glas, Metalle usw. ausgesetzt werden. Einige Vorsicht erfordern dabei die mit Weichlot gelöteten Metallgegenstände.

Die Sterilisation durch feuchte Wärme wird entweder mit strömendem Dampf von der Temperatur des bei gewöhnlichem Luftdruck siedenden Wassers oder mit erhitztem Wasserdampf durchgeführt. Endlich sind hierher noch lange dauernde Erwärmungen von Flüssigkeiten auf 65—75° zum Behufe der Entkeimung zu rechnen, die man kurzweg als Pasteurisation bezeichnet.

Im strömenden Dampf von der Temperatur des bei gewöhnlichem Luftdruck siedenden Wassers werden alle vegetativen Bakterienzellen sicher in einer Viertelstunde vernichtet, nicht aber die Sporen, von denen ja bekanntlich einige sogar vielstündiges Kochen vertragen. Um nun die Substrate durch allzu langes Kochen nicht selbst zu verändern, sterilisiert man gewöhnlich in diesem Falle diskontinuierlich. Es werden dabei die Substrate jedesmal nur kurze Zeit, aber öfters hintereinander erhitzt. Bei der ersten, 15 Minuten währenden Erhitzung werden alle Oidien zerstört, während noch zahlreiche Sporen lebend geblieben sein können. In den nun folgenden 24 Stunden keimen die meisten der letzteren und die nach dieser Zeit vorgenommene Erwärmung vernichtet die jungen Keimstäbchen und vegetativen Zellen. Eventuell noch vorhandene Sporen keimen sicher in den nun folgenden 24 Stunden, nach deren Verlauf noch ein drittes Mal durch 15 Minuten erhitzt wird. Jetzt sind sicher die letzten jungen vegetativen Zellen getötet, und da keine Sporen mehr vorhanden sind, ist das Substrat steril. Auf diese Weise entkeimt man die meisten der in der Mykologie verwendeten Nährsubstrate, da diese kurzen Erhitzungen kaum eine Veränderung derselben herbeiführen.

Wir haben aber auch extrem widerstandsfähige Sporen von Erdbakterien kennen gelernt, die durch einmalige, selbst sehr lange dauernde Erhitzung in strömendem Dampf nicht vernichtet werden. Um sie innerhalb weniger Minuten sicher zu töten, bedient man sich des **erhitzten Wasserdampfes.**

In sog. „Autoklaven" wird Wasser unter erhöhtem Druck kochen gelassen, wobei der Dampf entsprechend dem herrschenden Drucke Temperaturen über 100° aufweist. In denselben werden selbst die dauerhaftesten Sporen rasch getötet, wie folgendes Beispiel [1]) zeigt:

Die Sporen von Erdbakterien wurden bei verschiedenen Temperaturen sterilisiert, wozu folgende Erhitzungszeiten nötig waren:

---

[1]) Zitiert nach A. Fischer, Vorlesungen über Bakterien S. 109, Jena 1903.

bei	100°	16 Stunden
„	115°	30—60 Minuten
„	130°	5 „
„	140°	1 Minute.

Leider können diese hohen Temperaturen in der Praxis seltener verwendet werden, da durch ihre Anwendung meist eine tiefgehende Veränderung in der Zusammensetzung der Substrate herbeigeführt wird.

Wie schon gesagt, werden beim „Pasteurisieren", der noch zu erwähnenden Sterilisierungsmethode durch feuchte Wärme, nur niedere, zwischen 55 und 70° C liegende Temperaturen lange Zeit hindurch angewendet. Dabei sterben nur die vegetativen Zellen ab. Durch diskontinuierliches Pasteurisieren kann, analog der diskontinuierlichen Sterilisation im strömenden Dampf, ebenfalls eine vollständige Entkeimung des Substrates erreicht werden. Anwendung findet dieses

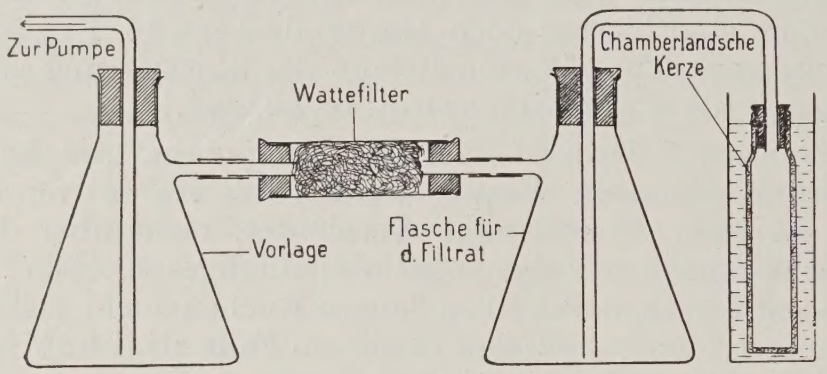


Fig. 159.

Verfahren nur auf Mikroorganismen, die sich in Flüssigkeiten befinden. Es tritt dabei kaum eine Veränderung der Substrate selbst ein, was besonders bei der Herstellung steriler Eiweißlösungen wichtig ist; letztere würden ja im strömenden Dampf koagulieren.

Bei den Methoden der Dampfsterilisation werden nicht nur die Bakterien, überhaupt Mikroorganismen, getötet, sondern auch ihre Enzyme vernichtet. Letzteres findet bei der Pasteurisation nur in beschränktem Maße statt, weshalb eine nachträgliche Veränderung der Flüssigkeiten durch dieselben immerhin möglich ist.

b) Entkeimung durch Filtration.

Durch Filtration gelingt die Entkeimung von Flüssigkeiten und von Luft sehr gut. Dadurch findet eine völlige Trennung der Mikroorganismen von der Flüssigkeit und Luft statt. Wir haben nur nötig, uns Filter herzustellen, deren Poren kleiner sind als die Mikroorganismen. Solche Filter werden aus Porzellan, Kieselgur, Asbest u. dgl. bereitet. Für Laboratoriumszwecke kommen in erster Linie die sog. Chamberlandschen Kerzen aus Porzellan und die Berkefeldfilter aus Kieselgur in Betracht. Um einen raschen Durchtritt der Flüssigkeit zu erhalten, arbeitet man immer unter Druck, indem man entweder die Flüssigkeit durch Pumpen hindurchdrückt oder aber die Kerze in einem luftverdünnten Raum anbringt, so daß infolge des negativen Druckes die zu filtrierende Lösung hindurchgesaugt wird. Letztere Anordnung ist wohl die einfachste und billigste, weshalb sie fast immer benützt

wird. Außerdem lassen sich die einzelnen Teile derselben sehr leicht reinigen. In Figur 159 ist eine solche Zusammenstellung im Schnitt wiedergegeben. Selbstverständlich muß das Filtrat in einem vorher innen sterilisierten Gefäß aufgefangen werden. Auch alle Verbindungsrohre müssen innen ebenfalls keimfrei sein. Dort, wo die Saugpumpenleitung angelegt ist, befindet sich ein steriles Wattefilter, welches ein nachheriges Eindringen von Luftkeimen bei der Entnahme und Aufbewahrung des Filtrates verhindert. Vor dem Gebrauch sterilisiert man die Auffangflasche samt dem daran montierten Porzellan- und Wattefilter im strömenden Dampf, da die Verwendung der trockenen Hitze wegen der Kautschukverbindungen unstatthaft ist. Bei dieser Sterilisationsmethode ist immer zu bedenken, daß die Porzellanfilter und auch die Berkefeld-Filter außer den Bakterien noch andere in Scheinlösung befindliche Stoffe zurückhalten können, was gewiß nicht erwünscht ist. Außerdem enthalten die Filtrate die meisten in die Flüssigkeit übergegangenen Enzyme der Mikroben, weshalb man die keimfreie Filtration besonders zur Gewinnung steriler Enzymlösungen benützt.

Die bisher kurz besprochenen Bakterienfilter sind aus poröser mineralischer Substanz aufgebaut. Die dabei erreichbare Porenkleinheit genügt, Bakterien im gewöhnlichen Sinne des Wortes zurückzuhalten, während submikroskopische Organismen hindurchgehen. Für diesen Zweck ist die Verwendung der sog. Ultrafilter erforderlich. Zur Herstellung dieser Filter dienen meist organische Substanzen, wie erstarrte Gelatine, auch in der Form eines gehärteten Gels, dann Agar-Agar, Kollodium usw. und endlich natürliche Pflanzenmembranen in der Form von Schilfsäckchen. Die Adsorption von Teilen der filtrierenden Substanz spielt bei den Filtermethoden mit mineralischen, porösen Körpern, wie Tonkerzen usw., eine nicht zu unterschätzende Rolle. Sie tritt aber bei der Ultrafiltration noch weit mehr in den Vordergrund. Dabei werden bestimmte Sole, mitunter Salze und Ionen, quantitativ im Filter selbst zurückgehalten. Tritt dann eine Sättigung des Filters ein, so findet meist ein weiterer ungehinderter Durchtritt dieser Substanz statt. Der bei der Filtration herrschende Druck übt ebenfalls einen Einfluß auf die Adsorption in dem Sinne aus, daß diese bei höherem Druck größere Werte annimmt und bei einem Heruntergehen des Druckes eine Wiederabgabe der adsorbierten Substanz erfolgt. Um den weichen und leicht dehn- und zerreißbaren Gelen eine größere Festigkeit zu verleihen, pflegt man damit gewöhnlich große poröse Filter aus Papier zu imprägnieren oder aber mineralische Filter damit zu überziehen. Dadurch wird es möglich, die Kolloidfilter auch bei sehr hohem Druck zu verwenden.

2. Entkeimung durch Licht.

Über die wachstumhemmende Wirkung des Lichtes gegenüber Mikroorganismen gehen die Anschauungen weit auseinander. Dazu trug wohl auch viel die angewendete Untersuchungstechnik bei. Das Sonnenlicht wird sowohl in seiner Intensität als auch in seiner Zusammensetzung im kurzwelligen Teil von atmosphärischen Verhältnissen und den durch den Staub und Rauch geschaffenen Dunst wesentlich

beeinflußt. Dabei sind diese Einflüsse meist vollkommen unkontrollierbar und wechseln ständig. Überdies ist die Wirkung der im Sonnenlicht und überhaupt in jeder Lichtquelle vorhandenen Strahlen der verschiedenen Wellenlänge sehr ungleich. Wie schon auf Seite 152 auseinandergesetzt, sind die kurzwelligen Strahlen die wirksamen. Zur Entkeimung kommen auch nur diese in Frage. Das ultraviolette Licht besitzt jedenfalls eine stark keimtötende Kraft, die sich einerseits unmittelbar gegen die Mikroben selbst richtet und andererseits den Nährboden derart chemisch zu verändern vermag, daß eine Schädigung der Bakterien eintreten kann. Im allgemeinen können wir wohl sagen, daß die entkeimende Wirkung der ultravioletten Strahlen nur in jenen Medien praktisch anwendbar ist, die für diese Strahlen durchlässig sind. Daher hat sich das ultraviolette Licht in erster Linie zur Entkeimung von Wasser im großen als brauchbar erwiesen. Dazu finden Lichtquellen Verwendung, die besonders reich an kurzwelligen Strahlen sind, wie z. B. das Licht einer Quarzlampe. In derselben wird ein Quecksilberdampf-Lichtbogen erzeugt. Der Quarz ist für die kurzwelligen Strahlen durchlässig, ebenso ist reines Wasser in hohem Grade dafür durchgängig. Der allgemeinen Einführung dieser Art von Sterilisation des Trinkwassers stehen nur die hohen Kosten des Betriebes gegenüber.

---

3. Entkeimung durch chemische Mittel.

Die Entkeimung durch chemische Mittel kann entweder eine vollständige Abtötung aller in oder auf dem betreffenden Substrat befindlichen Mikroorganismen erzielen oder nur eine Vernichtung aller krankheiterregenden Mikroben; im letzteren Falle sprechen wir von chemischer Desinfektion. Reichen die chemischen Mittel nur dazu hin, eine Hemmung in der Entwicklung von Bakterien herbeizuführen, so sprechen wir von Antisepsis. Eine und dieselbe chemische Verbindung kann entsprechend ihrer Konzentration, der herrschenden Temperatur und der Einwirkungsdauer sowohl zur völligen Entkeimung als auch zur Desinfektion und Antisepsis dienen. Eine große Anzahl organischer und anorganischer Verbindungen hat die Eigenschaft, schon in sehr großer Verdünnung schädigend und schließlich tötend auf Bakterien einzuwirken. Man faßt diese Mittel als Antiseptika kurz zusammen, wobei man für die Praxis von denselben noch einige weitere Eigenschaften, bzw. die möglichste Entkeimungskraft fordert. Von dem Antiseptikum verlangt man im allgemeinen, daß es in möglichst kurzer Zeit und in großer Verdünnung auch die widerstandsfähigsten Sporen tötet und dabei keine Nebenwirkung äußert, die dessen Gebrauch im täglichen Leben beeinträchtigt und im speziellen Fall als schädlich verbietet. Es soll also für Kleinlebewesen besonders giftig, für den höheren Organismus in den verwendeten Dosen aber möglichst ungiftig sein. Außerdem soll es auf die mit ihm in Berührung kommenden Geräte nicht schädigend wirken. So ist z. B. ein an sich vorzügliches Desinfektionsmittel im Gärungsbetrieb unbrauchbar, wenn es Rohrleitungen u. dgl. stark angreift.

Zur Beurteilung eines Antiseptikums ist daher eine Reihe von Versuchen notwendig, die hinsichtlich der bakteriziden Kraft des-

selben in zweierlei Richtung unternommen werden. Vor allem ist der „Hemmungswert" zu ermitteln, der eigentlich eine reine Konzentrationsangabe ist, bei der außer der Art der probierten Mikroorganismen die Temperatur und die Menge der vorhandenen Bakteriennährstoffe zu berücksichtigen ist. Dann ist der „Tötungswert" zu bestimmen, der durch die Zeit der Abtötung einer bestimmten Bakterienart bei einer bestimmten Konzentration und Temperatur definiert ist. Es ist wohl selbstverständlich, daß alle diese Werte relativer Natur sind.

Die Vergleichung von verschiedenen Desinfektionsmitteln ist nur dann möglich, wenn unter peinlicher Einhaltung gleichgearteter äußerer Verhältnisse eine Wertbestimmung der Desinfektionskraft vorgenommen wird. Dazu sind heute ziemlich exakte Methoden in Verwendung, auf die hier nicht im einzelnen eingegangen werden kann. Im wesentlichen muß dabei verlangt werden, daß ein genau bekanntes und für diese Versuche auch geeignetes Testmaterial von Bakterien verwendet wird. Die Temperaturen, bei denen die Einwirkung der zu untersuchenden Substanz in genau bekannter Konzentration erfolgt, müssen konstant eingehalten bleiben. Außerdem müssen die Versuche möglichst so gemacht werden, daß alle Keime des Testmaterials den Schädigungen gleich ausgesetzt werden und sich daher unter gleichen Bedingungen befinden. Überdies ist dafür peinlichst Sorge zu tragen, daß nach der Einwirkung das schädliche Agens so restlos als möglich entfernt und die Probe auf die Entwicklungsfähigkeit der behandelten Mikroben unter den für sie optimalen Bedingungen vorgenommen wird.

Diesen Forderungen kann bei genügend exakt angestellten Versuchen in weitem Maße Rechnung getragen werden. Deshalb dürfen zu den Desinfektionsversuchen nur Reinkulturen von gut definierten Bakterienarten verwendet werden. Davon benützt man sporenlose und Sporenkulturen. Im wesentlichen arbeitet man entweder mit Aufschwemmungen von jungen Kulturen in destilliertem Wasser oder mit eingetrocknetem Material. Im letzteren Falle ist die gewählte Unterlage von bedeutendem Einfluß. Am zweckmäßigsten ist die Verwendung von Glas oder kleinen Tariergranaten von 1,4—2,6 mm Durchmesser. Damit eine gleichmäßige Benetzung der Granaten erfolgt, müssen dieselben einem besonderen Reinigungsprozeß unterworfen werden. Man kocht sie zweimal in Salzsäure aus, spült sie dann mit Wasser, Alkohol und schließlich Äther, dann wieder mit Alkohol und schließlich mit Wasser. Hierauf werden sie getrocknet und in heißer Luft sterilisiert. Jetzt werden sie in die Testaufschwemmung gebracht und dann bei niederer Temperatur über Chlorcalcium oder im Vakuum getrocknet. Die Aufbewahrung hat in zugeschmolzenen Gläsern im Dunkeln zu geschehen.

Handelt es sich um die Prüfung von gasförmigen Desinfektionsmitteln, wie Formaldehyd u. dgl., dann erscheint die Verwendung von Seidenfäden als Unterlage für die eingetrockneten Mikroben bequemer und vorteilhafter. Man hat nur darauf zu sehen, daß die Seide selbst keine an sich schon schädlichen Beschwerungsmittel, wie Bleisalze, enthält.

Die Testobjekte müssen dem Desinfektionsmittel so ausgesetzt sein, daß die Einwirkung eine gleichmäßige und vollkommene ist. Wie schon

angedeutet, muß nach dem Versuch das Desinfektionsmittel so vollkommen und so rasch als möglich entfernt werden. Dabei ist ganz besonders darauf zu achten, daß durch chemische Maßnahmen nicht etwa neue Verbindungen entstehen, die an sich ebenfalls zumindest entwicklungshemmende Eigenschaften aufweisen. Ein Beispiel dafür ist das Formaldehyd, das man durch Ammoniak in Hexamethylentetramin überführen kann. Es verläuft diese Reaktion verhältnismäßig langsam und liefert im Hexamethylentetramin eine Substanz, die an sich entwicklungshemmende Eigenschaften besitzt. In den meisten Fällen genügt bei der Verwendung von Kulturaufschwemmungen die mechanische Trennung der Keime von der Flüssigkeit durch Zentrifugieren oder Fällung, worauf man neuerlich mit Wasser versetzt, wieder ausschleudert und dies einigemal wiederholt. Diese Art der nachherigen Reinigung genügt ganz besonders bei den Phenolen, da ja in geringer Menge Phenole ohne jede Schädigung von den Bakterien vertragen werden. In vielen Fällen wird schon die durch Eintragen kleinerer Suspensionsmengen in das Nährmittel hervorgerufene Verdünnung vollkommen ausreichen.

Größere Schwierigkeit macht die Entfernung von Metallsalzen, wie Silbernitrat, Kupfersulfat und Quecksilberchlorid. Um hier eine rasche Entgiftung zu erreichen, ist es notwendig, die Metalle chemisch unlöslich zu binden, wozu man Sulfide und Schwefelwasserstoff anwendet. Aber diese Gegengifte sind selbst schon ausgesprochene Zellgifte. In diesen Fällen ist mit möglichst äquivalenten Mengen zu arbeiten und überdies Soda beizugeben, um sofort eine Überführung der frei werdenden Säure in ein Neutralsalz zu ermöglichen.

Die Wirkung der Desinfektionsmittel auf die Zelle kann sich nun verschieden äußern und wird durch äußere Umstände wesentlich beeinflußt.

Es hat sich nun ganz allgemein gezeigt, daß der Lösungszustand des Giftes für die Giftwirkung von allergrößter Bedeutung ist. Damit ist auch sofort ein Unterschied der Wirkung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten aufgerollt. Wir wissen, daß nach der Dissoziationstheorie von Arrhenius schon bei der Lösung auch ohne Zutun des elektrischen Stromes eine gewisse Anzahl von Molekülen des gelösten Stoffes, sofern es sich um Elektrolyte handelt, in Ionen zerfallen. Die Lösung enthält somit neben kompletten Molekülen noch elektropositive Kationen (Metall) und elektronegative Anionen. Säurelösungen müssen dementsprechend neben den Säuremolekülen noch als Kation Wasserstoffionen und Laugen Hydroxylionen als Anion enthalten. Diese Dissoziation ist bei den einzelnen Elektrolyten verschieden und abhängig von der Konzentration und dem Lösungsmittel. Im allgemeinen wächst die Anzahl der Ionen mit der Abnahme der Konzentration, also der Verdünnung der Lösung. Die Giftwirkung müssen wir nun auf die Wirkung der Ionen im Verein mit derjenigen der Moleküle zurückführen. Wollte man darin eine ausschließliche Ionenreaktion erblicken, so müßte man immerhin den Diffusionsverhältnissen und den in der Zelle eintretenden Umsetzungen der giftigen Ionen bei der Erklärung Rechnung tragen. Außerdem darf nicht außer acht gelassen werden, ob die Giftwirkung der Ionen ein katalytischer Vorgang ist, der also nicht zu einem Verbrauch derselben führt, oder ob chemische Bindungen eintreten, wodurch Ionen aus der Lösung ausge-

schaltet werden. In letzterem Falle werden die weniger dissoziierten Lösungen heftiger giftig wirken, da an Ort und Stelle entsprechend dem Verschwinden und dem Verbrauch der Ionen sofort aus den unzerlegten Molekülen neue entstehen, also nicht erst von außen zuwandern müssen.

Auf die Giftwirkung der Elektrolyten wirken aber auch Zusätze von Salzen ein, die selbst wieder dissoziiert werden. Liefern sie dabei ein gleiches Ion, wie z. B. Natriumchlorid + Quecksilberchlorid, so wird die Dissoziation vermindert und damit die Giftwirkung herabgesetzt. Auch Zusätze von Neutralsalzen verändern die Giftwirkung. Die bezüglichen Versuche haben ergeben, daß alle Neutralsalze, welche, in größeren Mengen zugefügt, eine Aussalzung des Giftes herbeiführen, in kleineren Dosen dazugeben, eine Verstärkung der Giftwirkung auslösen. Eine Erklärung dafür gibt das Gesetz von der Verteilung eines Stoffes in mehreren gleichzeitig vorhandenen Lösungsmitteln. Es wird das Gift sozusagen in größeren Mengen ins Protoplasma eindringen und es rasch vernichten, wenn außen die Löslichkeit abnimmt.

Die Giftwirkung komplexer Salze geht ebenfalls auf ihre Dissoziation zurück. Dabei entstehen aber nicht Kationen eines einfachen Metalles, sondern komplexe Ionen, wie folgendes Beispiel zeigt :

Kaliumquecksilberjodid dissoziiert in:

K^+ und $Hg\,J_4^-$

Das Ion $Hg\,J_4$ dissoziiert teilweise auch in Hg^+ und Jod, so daß in diesem Falle allerdings auch Quecksilber-Kationen frei vorhanden sind, jedoch nur in sehr spärlicher Menge, weshalb das Kaliumquecksilberjodid im Vergleich zum Quecksilberchlorid nur wenig giftig wirkt.

Wenn wir zusammenfassend kurz die Giftwirkung der verschiedenen organischen und anorganischen Stoffe in ihrer Abhängigkeit vom Lösungsmittel und der Dissoziation überblicken, so können wir die Gifte selbst mit Spiro und Scheurlen in zwei Klassen einteilen, in solche, die hauptsächlich durch ihre Ionen wirken („Desinfizientien erster Ordnung"), und in solche, die in erster Linie durch das komplette Molekül wirken („Desinfizientien zweiter Ordnung"). Ein Beispiel für die zweite Klasse ist das Phenol, das überhaupt nur sehr wenig in die Ionen H und C_6H_5O dissoziiert wird.

Wir haben schon festgestellt, daß die Dissoziation der Gifte der ersten Klasse in der Lösung für ihre Wirkung von einschneidender Bedeutung ist. In der Tat sind Lösungen derselben in starkem Alkohol, wo keine Dissoziation eintritt, ungiftig. Bei Verwendungen von verdünntem Alkohol liegt die Sache allerdings anders, da häufig die Giftigkeit unter diesen Umständen steigt. Es dürften in diesem Falle durch den Alkohol die Diffusionsverhältnisse der Zelle eine Störung erfahren.

Wir können nun die Desinfektionsmittel in mineralische und organische gruppieren. Ausgenommen die Bakterientoxine, die im Tierkörper produziert werden und spezifisch außerordentlich giftig auf Bakterien einwirken, sind die mineralischen Desinfektionsmittel die wirksameren. Einige von ihnen seien hier aufgeführt. Alle starken Säuren und Alkalien höherer Konzentration wirken sehr

heftig, doch stehen ihrer Verwendung unangenehme Nebenwirkungen im Wege. Viel gebraucht wird die schweflige Säure (SO_2) in freiem und gebundenem Zustande. Uralt ist der Brauch des Einschwefelns von Fässern und Bottichen, die bei der Wein- und Bierbereitung verwendet werden. Hier wird in dem Gefäß Schwefel zu Schwefeldioxyd verbrannt. Im Brauereigewerbe schwefelt man auch den Hopfen und sogar das Malz, um Bakterien möglichst auszuschalten, die gegen schweflige Säure viel empfindlicher sind als die Hefen. Weiter dient doppeltschwefligsaures Kalzium ($Ca(HSO_3)_2$) in wässriger Lösung mit einem Gehalte von ca. 10 g Schwefeldioxyd im Liter häufig als brauchbares Desinfiziens für Gärbottiche u. dgl. Auch das schwefligsaure Natron findet in der Konservierungspraxis für Fleisch Anwendung, sofern eine solche gesetzlich nicht verboten ist.

Kohlensäure ist ein sehr minderwertiges Desinfektionsmittel, wenn auch seine das Bakterienwachstum hemmende Eigenschaft besonders unter hohem Druck nicht geleugnet werden kann. Kohlendioxyd kann also höchstens für Konservierungszwecke Anwendung finden, nicht aber zu Sterilisation.

Wohl die kräftigsten Desinfektionsmittel anorganischer Natur sind Quecksilber- und Silbersalze. Auch die anderen Edelmetalle würden ausgezeichnete Antiseptika abgeben, wenn ihr hoher Preis nicht ein Hindernis wäre. Deshalb kommen sie für die Praxis nicht in Betracht.

Von den Quecksilberverbindungen besitzt das Quecksilberchlorid (Sublimat) die größte Desinfektionskraft. Es wird in wässerigen Lösungen im Verhältnis von 1 $HgCl_2$ zu 1000 dest. Wasser verwendet. In der Gärungsindustrie kann es wegen seiner großen Giftigkeit nicht gebraucht werden, wohl aber im Laboratorium und bei der Konservierung von Holz für Telegraphenstangen, Eisenbahnschwellen u. dgl., das damit imprägniert wird. Zur Desinfektion von Bakterienkulturen in eiweißhaltigen Flüssigkeiten muß es in größerer Konzentration angewendet werden, da es mit Eiweißkörpern unlösliche Verbindungen eingeht und dadurch der Lösung entzogen wird.

Kupfersalze finden besonders bei der Sterilisation des Holzes und von Wänden Verwendung. Häufig werden Mischungen mit organischen Desinfektionsmitteln vorgenommen oder Kupferverbindungen mit organischen Säuren hergestellt. Das Mikrosol ist ein solches kupferhaltiges Antiseptikum, das auch etwas Flußsäure enthält. Es besteht demnach aus Kupfersulfat, phenolschwefelsaurem Kupfer und etwas Flußsäure. Man gebraucht es zu desinfizierenden Wandanstrichen in 4proz. Lösung.

In den gärungstechnischen Betrieben wichtig ist die Fluorwasserstoffsäure und besonders ihre Salze als Desinfektionsmittel, da gegen sie die Hefen weniger empfindlich sind als die Schizomyzeten und deshalb eine Unterdrückung letzterer ohne Schädigung der ersteren möglich wird. Von flußsäurehaltigen Desinfektionsmitteln sind vor allem zu nennen das Fluorammonium. das schon oben genannte Mikrosol, das Montanin. Letzteres ist ein Nebenerzeugnis der Tonindustrie. Sein wirksamer Bestandteil ist Kieselfluorwasserstoffsäure. Man verwendet im allgemeinen eine 2—4proz. Lösung durch 2—10 Stunden hindurch zur Sterilisation von Holzgeräten, Kautschukschläuchen u. dgl. Zur Desinfektion von Metallen nimmt man dieselbe Kon-

zentration, läßt aber kürzere Zeit einwirken. Auch Lacke werden von dem Montanin nicht angegriffen. In bezug auf die Desinfektionskraft können die Flußsäurepräparate in folgender Reihe von links nach rechts steigend nach Will aufgestellt werden:

Mikrosol-Montanin-Fluorammonium-Flußsäure.

Chlor und Brom werden in Gasform kaum zu Desinfektionszwecken benützt, wohl aber als Chlorkalk und Bromlösungen in Bromkalium. Besonders letztere Methode soll sich zur Wassersterilisation gut eignen, nachdem schon durch 0,06 g Br im Liter Wasser in fünf Minuten völlige Sterilisation in demselben hervorgerufen wird. In der Brauerei benützt man zum Reinigen und Desinfizieren, besonders der Rohrleitungen, das sog. Antiformin in einer Konzentration von 1 : 20. Dasselbe besteht aus Natriumhydroxyd und Natriumhypochlorid.

Eine gewisse Bedeutung als Desinfektionsmittel besitzt auch die Soda (kohlensaures Natron) in einer 2—5proz. Lösung. Gewöhnlich verwendet man die Sodalösungen heiß zugleich als gutes Reinigungsmittel. Die desinfizierende Wirkung ist auf die stark alkalischen Eigenschaften zurückzuführen.

Dieselbe Ursache hat die desinfizierende Wirkung von frisch hergestellter Kalkmilch, die als Anstrich zur Entkeimung von Wänden stark verwendet wird.

Ein hervorragendes Desinfektionsmittel ist das Wasserstoffperoxyd (H_2O_2), das durch abgegebenen aktiven Sauerstoff wirkt, wodurch es während der Wirkung allmählich in Wasser übergeht. So kann es wohl neben dem Ozon als das für höhere Organismen unschädlichste Antiseptikum bezeichnet werden. Es sterilisiert Trinkwasser in 24 Stunden bei einer Menge von etwa 0,1 g im Liter vollständig, ohne ihm einen Beigeschmack zu verleihen. Allerdings darf dann nur die reinste Marke Wasserstoffperoxyd, z. B. Perhydrol Merck, verwendet werden, was aber die Kosten sehr erhöht.

Dem Ozon (O_2) scheint im allgemeinen keine besonders große desinfizierende Kraft innezuwohnen. Immerhin tötet es aber pathogene Mikroorganismen ziemlich rasch ab. Wenn es auch im großen angewendet werden könnte, so sind doch die Kosten ziemlich groß, da es ja vornehmlich zur Trinkwassersterilisation berufen erscheint, wo natürlich große Wassermengen damit behandelt werden müssen.

Nachdem wir nun kurz die allerwichtigsten mineralischen Antiseptika erwähnt haben, wenden wir uns dem Heer der **organischen Desinfektionsmittel** zu. Die durch Bakterien selbst erzeugten organischen Säuren, wie Milchsäure u. a., sind größtenteils gute Desinfektionsmittel für andere Bakterien. Die Konservierung von gewissen Nahrungsmitteln, wie sauren Gurken usw., beruht ja gerade auf der Bildung von Milchsäure. Ein verhältnismäßig stark wirkendes Antiseptikum ist die Zitronensäure.

Alle Alkohole der Fettreihe sind besonders für jene Mikroorganismen wachstumhindernd und tötend, die dieselben nicht selbst erzeugen oder sie weiter als Kohlenstoffquellen benützen. In stärkeren Konzentrationen sterilisieren sie alle Mikroben. Von besonderer Bedeutung ist der Äthylalkohol in wässriger Lösung von 50—60% Gehalt.

In konzentrierter Lösung nimmt die Desinfektionskraft ab und erlischt in wasserfreiem Alkohol.

Ein in vielen Fällen brauchbares Antiseptikum von allerdings schwächerer Wirkung ist Äthyläther, der in einer Menge von 10 bis 15% einer Flüssigkeit zugesetzt, sie nach einiger Zeit vollständig steril macht. Er kann nachher unter der Luftpumpe wieder entfernt werden. Diese Art der Sterilisation kann mit Vorteil für Eiweißsubstanzen verwendet werden, da dabei diese empfindlichen Stoffe ungeronnen und vollständig erhalten bleiben. Azeton, Chloroform, Benzol und Toluol kann man in ähnlicher Weise zur Desinfektion gebrauchen.

Von großer Desinfektionskraft ist der Formaldehyd in wässriger Lösung. Er kommt unter dem Namen Formalin in 40proz. wässriger Lösung in den Handel. Man gebraucht ihn in Lösungen von 1 : 1000 bis 1 : 500 zur Sterilisation, während Verdünnungen von 1 : 20000 bereits entwicklungshemmend wirken.

Die weiteste Verbreitung haben neben dem Formaldehyd die Kresole und das Phenol gefunden, deren keimtötende Eigenschaften gerade nicht sehr groß sind. Die Karbolsäure verwendet man in 3—5-proz. wässrigen Lösungen. Gewöhnlich werden nicht die reinen Präparate angewendet, sondern Zusammenstellungen mit Zusätzen, die die Desinfektionskraft erhöhen und die Löslichkeit in Wasser fördern. In der folgenden Tabelle sind einige wenige davon kurz charakterisiert:

Kresolin:	¼	Kresole Kresolverbindungen Kohlenwasserstoffe	+ ¾ Harzseife.
Lysol:	Teeröle	viel Phenole wenig Kohlenwasserstoffe	+ Seife.
Kreolin:	Teeröle:	wenig Phenole und Kresole viel Kohlenwasserstoffe	+ Seife.

Antinonin: Orthodinitrokresolkalium + Seife + Glyzerin.

In diesen angeführten Beispielen sind nur die wichtigsten Bestandteile angegeben. Die wirksamen Agentien sind immer die Kresole und Phenole bzw. deren Salze, während die Seifen usw. kaum nennenswert desinfizieren, sondern vielmehr das Eindringen der wirksamen Substanzen erleichtern.

Wollte man alle organischen Antiseptika und Kombinationen organischer Verbindungen mit Metallen usw. auch nur aufzählen, so würde dies eine riesige Liste geben. Es vergeht fast kein Tag, an dem nicht neue Desinfektionsmittel auftauchen.

Praktisch führt man die Entkeimung sehr häufig kombiniert aus. Gewöhnlich vereinigt man chemische mit Temperaturwirkungen. Jedes Antiseptikum wirkt mit zunehmender Temperatur rascher und energischer, weshalb man zur Erreichung vollständiger Tötung aller vorhandenen Keime bei zunehmender Erwärmung die Konzentration herabmindern kann, was in vielen Fällen offenbare Vorteile bietet. Davon macht man ganz besonders bei der Nahrungsmittelkonservierung und Haltbarmachung von Fruchtsäften und geistigen Getränken Gebrauch.

4. Infektionsverhütung.

Ebenso wichtig wie die Entkeimung ist die Hintanhaltung von Infektionen von sterilen oder sterilisierten Substraten. Allgemein bezeichnet man diese Infektionsverhütung auch als Asepsis.

Wie schon oben angedeutet, werden Gase, also auch Luft, am besten durch Wattefilter entkeimt. Im Laboratorium schützen wir alle in Flaschen aufbewahrten sterilen Substanzen durch eingesetzte Watteverschlüsse, die gleichzeitig mit dem Inhalt sterilisiert werden. Im großen verhütet man Infektionen von Gärkellern durch Luftkeime ebenfalls durch Verschließen der Lüftungsöffnungen mit mehreren Wattelagen. Überhaupt ist die Verhütung der unbeabsichtigten Infektion eines sterilen Substrates eine Hauptaufgabe des Mykologen, die er mit Watte meist zu lösen imstande ist. Allerdings haben die Watteverschlüsse

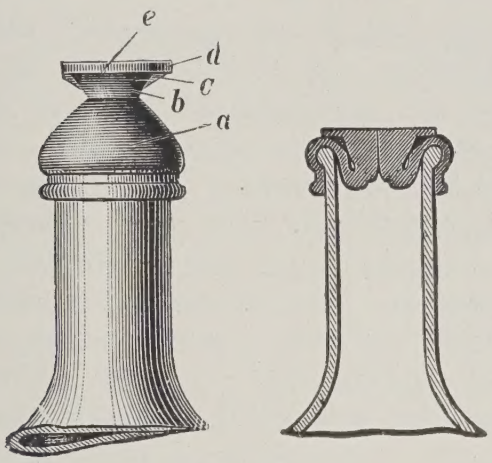


Fig. 160.

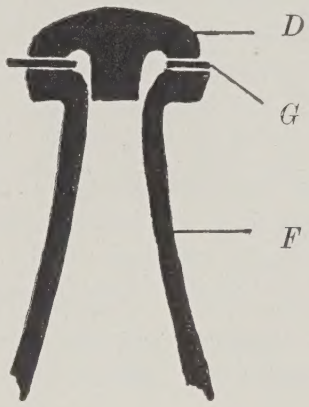


Fig. 161.

bei der Aufbewahrung von sterilen Flüssigkeiten den großen Nachteil, daß eine erhebliche Verdunstung eintritt, wodurch sehr beträchtliche Konzentrationsänderungen herbeigeführt werden. In vielen Fällen hilft hier eine über den Wattepfropf gesteckte Stanniolkapsel. Unter ihr keimen aber auf die Watte gefallene Schimmelsporen, da dieselbe wegen des Stanniolverschlusses von innen her durchfeuchtet wird. Die Hyphen der Schimmelpiize durchwachsen sehr leicht den Watteverschluß, bilden, unten angelangt, Sporen, die in die sterile Flüssigkeit fallen; auf diese Weise infizierte Nährsubstrate verderben natürlich in kürzester Zeit. An Stelle von Watte kann man auch Asbeststopfen verwenden. Dies geschieht meist dort, wo man zur Sterilisation dieser Versehlüsse trockene Hitze in der Form des Ausglühens verwendet.

Um die Mängel der Watteverschlüsse zu vermeiden, war man bemüht, andere keimdichte Verschlüsse zu erfinden. Sehr gut bewährt sich der Gummikappenverschluß nach Stutzer, der in Figur 160[1]) abgebildet ist. Links sehen wir die Kautschukkappe mit dem Schlitzventil *e* oben vor der Sterilisation, rechts dieselbe in eingedrücktem Zustande nach dem Dämpfen, wobei der Schlitz infolge des äußeren Luftdruckes

[1]) Die Abbildung ist dem Handbuch der technischen Mykologie von Lafar, Bd. I, S. 518, entnommen.

beim Auskühlen des Inhaltes vollständig geschlossen wird. Ausgezeichnet eignen sich für die Vorratsherstellung von Nährsubstraten im Laboratorium auch die Weckschen Konservenflaschen, bei denen auf den eben geschliffenen Flaschenrand ein breiter Kautschukring kommt, auf den wieder ein breitgeränderter Glasstopfen aufgelegt wird. Wir sehen die Anordnung im Schnitt in Figur 161 abgebildet. Beim Sterilisieren entwickelt sich über der Flüssigkeit im Innern der Flasche Wasserdampf, der die Luft verdrängt. Beim Abkühlen kondensiert sich derselbe, wodurch ein luftverdünnter Raum in der Flasche entsteht. Durch den Atmosphärendruck wird dann der Glasstopfen *D* auf den Ring *G* und dieser auf den Rand des Flaschenhalses *F* gepreßt, wodurch ein vollständig dichter Verschluß entsteht.

IX. Abschnitt.

Konservierung von Nahrungsmitteln.

Die Verteilung der Nahrungsmittel über das ganze Jahr und der Versand derselben von den produktionsreichen in die produktionsarmen Länder verlangt Maßnahmen, die eine vollständige Frischhaltung gewährleisten. So hat sich eine besondere Technik zur Haltbarmachung von Nahrungsmitteln, insonderheit Fleisch, Milch, Gemüse, Obst und Eiern entwickelt. Man war von altersher bestrebt, Nahrungsmittel möglichst unter Erhaltung des ursprünglichen Wohlgeschmackes für spätere Zeiten genußfähig aufzubewahren, zu konservieren. Die damals geübten Methoden gründeten sich auf eine Reihe von Erfahrungen. Erst den letzten Dezennien war es vorbehalten, die Konservierungsmethoden auf eine wissenschaftliche Grundlage zu stellen, die durch die Physiologie der Kleinlebewesen gegeben ist.

Im allgemeinen arbeitet man bei allen Konservierungen nach drei Methoden:

Die erste besteht darin, durch chemische oder physikalische Maßnahmen sämtliche vorhandenen Kleinlebewesen in dem zu konservierenden Nahrungsmittel zu vernichten, es also zu sterilisieren und in der Folge während der Aufbewahrung jede neuerliche Infektion durch geeignete Verschlüsse fernzuhalten. Durch diese Art der Haltbarmachung bekommt man ein sehr dauerhaftes Produkt, das nicht nur Jahre hindurch, sondern fast unbegrenzt genußfähig bleibt.

Die zweite Art der Konservierung fußt auf der Eigenschaft aller Mikroorganismen, bei tiefen Temperaturen, ungenügendem Feuchtigkeitsgehalt und größeren Salzkonzentrationen sich nicht mehr zu vermehren und auch keine Zersetzungen mehr herbeizuführen. Es wird dabei also durch Kälte ein Wachstumsstillstand der im Nahrungsmittel vorhandenen Mikroben herbeigeführt, der so lange dauert, als die tiefe Temperatur herrscht. Solche Konserven sind also nur so lange haltbar, als sie sich im gefrorenen Zustande befinden. Es kommt also dabei überhaupt zu keiner Vernichtung von Kleinlebewesen.

Die dritte und letzte Methode der Konservierung besteht darin, durch bakterielle Umsetzungen im Nahrungsmittel Stoffe entstehen zu lassen, die jede andere Mikroorganismen-

flora schon nach kurzer Zeit ausschalten. Im allgemeinen sind also hier gewisse Bakterien, wie Essig- und Milchsäurebakterien, selbst die Desinfektoren. Wir haben die Art der Konservierung schon bei der Besprechung der Gewinnung von Sauerkraut, Gurken usw. kennen gelernt. Auch die alkoholische Gärung durch Hefen wirkt in demselben Sinne durch den gebildeten Äthylalkohol konservierend. Die Haltbarkeit des alkoholreichen Weines ist darauf zurückzuführen. Die nach dieser zweiten Methode gewonnenen Produkte zeigen eine meist geringere Haltbarkeit, die bei den Sauergemüsen als sehr kurz zu bezeichnen ist.

Die zuverlässigste Methode der Konservierung zur Herstellung unbegrenzt haltbarer Dauerwaren ist die erstgenannte, sofern sie sachgemäß durchgeführt wird. Gewöhnlich wird durch Hitze allein sterilisiert und von der Beigabe besonderer Desinfektionsmittel abgesehen, deren Zusatz auch die meisten Gesetze verbieten. Die Durchführung richtet sich dabei nach dem zu konservierenden Produkt und wird dementsprechend bei Fleischkonserven anders ausfallen als bei der Haltbarmachung von Gemüsen. Es lassen sich daher dafür keine allgemein gültigen Regeln angeben. Man kann höchstens sagen, daß die mit Erdbakterien infizierten Nahrungsmittel eine weitaus längere Sterilisationsdauer bei sehr hohen Temperaturen erfordern als die nicht mit solchen Bakterien verunreinigten Produkte. Für die Konserven kommen als Aufbewahrungsgefäße entweder solche aus Glas oder Blech in Verwendung. Letztere sind wegen ihrer Billigkeit und sicheren Verschließbarkeit im Großbetrieb bevorzugt. Ganz allgemein verfährt man bei der Erzeugung der Konserven in der Weise, daß die halbfertig zubereiteten Nahrungsmittel in die entsprechenden Gefäße eingefüllt, dann luftdicht verschlossen und in diesem Zustande in großen geschlossenen Kesseln in Wasser unter Dampfdruck die entsprechende Zeit hindurch auf 100—120° erhitzt werden. Natürlich muß bei der Verwendung von Blechgefäßen auf das für dieselben verwendete Material geachtet werden. Einwandfrei sind nur verzinnte Eisenblechbüchsen, die bei der Verwendung zur Gemüse- oder Kompottkonservierung innen noch mit einem ungiftigen und geruchlosen Spirituslack überzogen sind. Der Deckel wird auf die Blechbüchsen entweder gelötet, wozu möglichst bleifreies Lot zu verwenden ist, oder noch besser maschinell aufgefalzt. Diese aufgepreßten Deckel sitzen vollkommen dicht, wenn sorgfältig arbeitende Falzmaschinen zur Verwendung gelangen. Viele Luxuskonserven von Obst, Fleisch und Gemüsen werden in Gläsern auf den Markt gebracht. Es existiert eine ganze Reihe verschiedener Konservengläser und fast jede Fabrik hat ihre besonderen Typen und Verschlußarten, die aber alle den einen Zweck haben, nach der Sterilisierung einen absolut luftdichten und damit auch keimdichten Verschluß herbeizuführen. Ganz allgemein sind dieselben so hergestellt, daß ein Metall- oder Glasdeckel mit einer zusammenpreßbaren und undurchlässigen Zwischenlage von Kork, Korkmasse oder Kautschuk dicht aufgesetzt ist. In der Figur 162 sind schematisch zwei Verschlüsse von Konservengläsern, wie sie im Fabrikbetrieb Verwendung finden, im Schnitt wiedergegeben. Dieselben bestehen im allgemeinen aus einem Blechdeckel *D* und einem über denselben greifenden Reifen *R* aus Blech, der

des leichteren Öffnens wegen durch ausgestanzte Zungen zusammengehalten ist. Als Zwischenlage zur vollständigen Abdichtung dient bei *I* ein mit *K* bezeichneter Kautschukring. Außerdem ist hier unter dem Deckel *D* noch eine Scheibe von Pergamentpapier eingelegt. Diese Verschlußart findet für feine Obstkonserven häufig Anwendung. Für die gewöhnlichen, sog. Konsumobstkonserven gebraucht man meist den einfacheren, in *II* wiedergegebenen Verschluß. Derselbe enthält als Dichtung eine 2—3 mm dicke Korkplatte (*K'*). Aufgesetzt und befestigt wird der Verschluß in beiden Fällen gleich. Dazu dienen eigene Maschinen. Unter gleichzeitigem Aufpressen des Deckels wird der untere Teil des Ringes *R* in eine unter dem Rand der Mündung des Glases befindliche Rinne eingedrückt. Dadurch wird der Deckel in aufgepreßtem Zustand festgehalten. Die folgende Figur 163 gibt uns ein Bild von Konservengläsern mit teilweise aufgelegtem und eben eröffnetem Verschluß und zeigt uns auch die ausgestanzten Zungen des Reifens, die denselben zusammenhalten und sich beim Öffnen leicht entfernen lassen. *A* dieser Figur entspricht einem

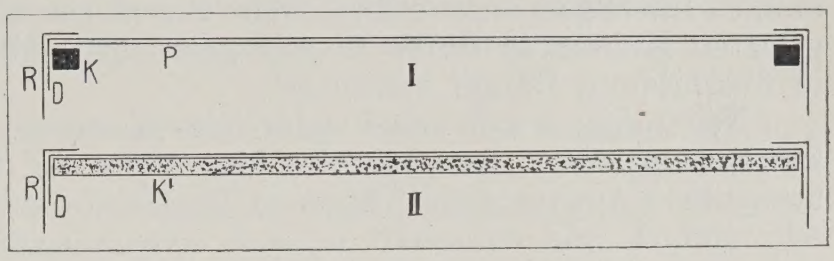


Fig. 162.

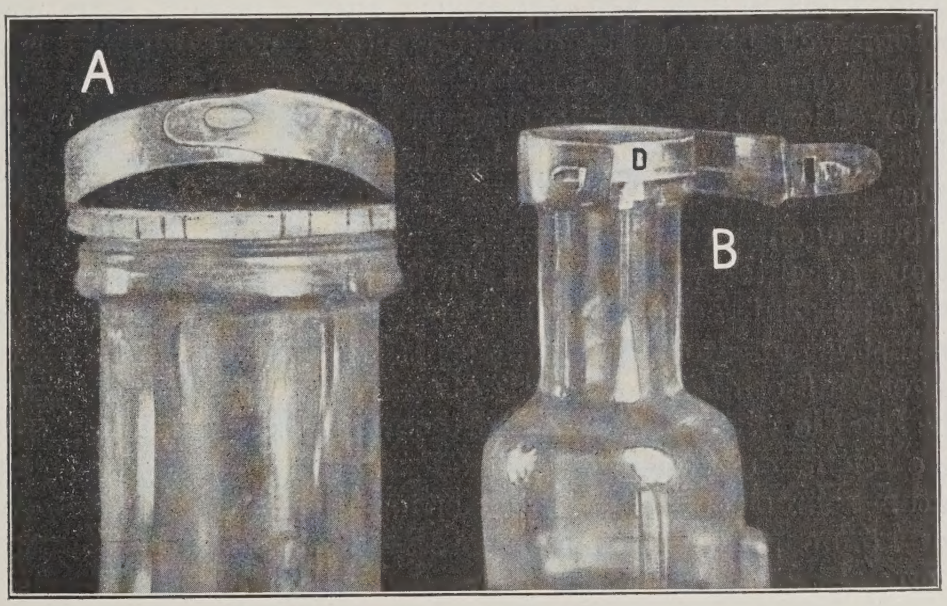


Fig. 163.

weithalsigen, für Obst- oder Gemüsekonserven bestimmten Glas, auf dessen glattgeschliffenen Rand die Korkscheibe aufgelegt und der Reifen mit dem Deckel eben aufgeschoben wird, während *B* den Verschluß beim Öffnen einer Konservenflasche zur Anschauung bringt. Hier ist der Reifen, der den hier gut sichtbaren Deckel *D* niederpreßt und festhält, bereits zum Teil abgelöst.

Vielfach werden die Konserven auch in nicht vollständig geschlossenem Zustande erhitzt. Die Blechbüchsen sind in diesem Falle nicht

gänzlich verlötet, sondern besitzen noch eine kleine Öffnung, die erst unmittelbar nach der Sterilisation zugelötet wird. In großen Fabriken besorgen eigene Maschinen die letzte Verschlußarbeit in noch heißem Zustande der Büchse ohne Entnahme derselben aus dem Sterilisationsapparat, so daß dabei jede Möglichkeit einer nachträglichen Infektion des Inhaltes ausgeschlossen ist.

Wie schon angedeutet, werden die Konserven in großen verschließbaren Kesseln entweder durch Dampf keimfrei gemacht oder unter Wasser getaucht erhitzt. Dabei finden meist Temperaturen über 100° Anwendung. Im allgemeinen erhitzt man alle in geschlossenen Behältern eingelegten Konserven unter Wasser getaucht, während man die anderen in überhitztem Dampf sterilisiert.

Neuerdings werden auch zahlreiche Gemüse, Obst- und Fleischkonserven im Hausbetriebe hergestellt und für diesen Zweck recht brauchbare Apparate und Gläser in den Handel gebracht, deren Verschluß sehr einfach und dauerhaft ist und einen oftmaligen Gebrauch zuläßt. Vor allem ist hier die Wecksche Einrichtung zu erwähnen, auf die schon früher (Seite 503 hingewiesen wurde. Dort ist der Verschluß auch eingehend beschrieben und abgebildet (Figur 161).

Von einer einwandfreien Konserve müssen wir verlangen, daß sie weder lebende Bakterien noch Sporen derselben enthält. Dies gilt in erster Linie für die Fleischkonserven, die so lange und bei solchen Hitzegraden zu sterilisieren sind, daß auch die widerstandsfähigsten Dauerformen der Erdbakterien sicher vernichtet sind. Die Fleischkonserven erfordern auch deshalb eine gründliche Sterilisation, weil bei der Schlachtung der Tiere zahlreiche Bakterien und Sporen vom Haarkleid zum Fleisch gelangen und mitunter die geschlachteten Tiere an Infektionskrankheiten gelitten haben, die trotz einer Fleischkontrolle und Fleischbeschau übersehen und dann bei ungenügender Erhitzung auf den Menschen durch den Genuß solcher Konserven übertragen werden können. Es muß bei der Konservierung auch darauf geachtet werden, daß alle Teile der Konserven den nötigen Hitzegrad eine genügende Zeit über besitzen. Je größer die Konservenbüchse selbst ist und je größere Fleischstücke sich in derselben befinden, desto länger muß erhitzt werden. Außerdem sollen immer einige Büchsen zur Probe für die wirklich stattgefundene Erhitzung im Innern mit einem ins Innere reichenden Thermometer oder mit einer bei einer bestimmten Temperatur schmelzenden Metallegierung versehen werden, um festsetzen zu können, daß tatsächlich die Erhitzung die gewünschte Temperatur erreicht hat.

Sämtliche Fleischkonserven-Herstellungsverfahren könnten nun wesentlich vereinfacht und die Erhitzungen weniger hoch getrieben werden, wenn sich das aseptische Schlachten und Aufarbeiten des Tieres einbürgern würde. Trotz gegenteiliger Annahme kann man das Innere des Fleisches und natürlich die Muskeln und Gewebe der Tiere überhaupt als keimfrei während des Lebens und kurz nach dem Tode ansehen. Dies gilt aber nur für gesunde Schlachttiere. Auch die unverletzten Früchte und Pflanzen sind im Innern vollständig frei von Mikroben. Es würde demnach gerade für die Herstellung der Fleischkonserven mit keimfrei, also aseptisch gewonnenem Fleisch eine kurz dauernde Erhitzung auf 80—100° zur Erreichung einer unbedingten Haltbarkeit

genügen. Ohne diese Erwärmung könnten wir dabei niemals auskommen, da sich in allen Geweben die überlebenden Enzyme finden, welche zur keimfreien Autolyse des betreffenden Gewebes führen, also einen unerwünschten Abbau der Proteine derselben verursachen. Wenn dieser auch nicht mit der Fäulnis in Parallele gesetzt werden darf, so treten durch ihn doch solche Veränderungen im Fleische u. dgl. auf, daß es nicht mehr genußfähig ist.

Wie schon angedeutet, benützt man zu Konservierungen auf kürzere Zeit meist die zweite und dritte Methode. Bei beiden findet keine Sterilisation der betreffenden Nahrungsmittel statt; es wird nur die Bakterienvermehrung eingeschränkt oder auf bestimmte Arten begrenzt.

Speziell das Fleisch konserviert man nach der zweiten Methode durch Kühlung, durch Entzug größerer Mengen von Feuchtigkeit mit und ohne Vermehrung des Salzgehaltes und Einführung von Desinfektionsstoffen, wie beim Räuchern.

Die Konservierung von Fleisch durch Kälte geschieht entweder durch Einlegen desselben in Eis oder durch Aufhängen desselben in ausgekühltem Zustande in trockener, kalter Luft, die entweder stagniert oder gewechselt wird, oder endlich durch Gefrierenlassen in sehr tiefen Temperaturen. Von einer auch nur mehrere Tage dauernden Haltbarmachung des Fleisches im Eisschrank kann kaum gesprochen werden, da sowohl die gewöhnlichen Haushaltungseiskästen und auch diejenigen der Fleischhauer meist eine Temperatur von + 4 bis + 6° aufweisen, bei welcher sich noch zahlreiche Bakterien rasch vermehren und das Fleisch verderben. Selbst bei 0° aufbewahrtes Fleisch verdirbt häufig. Erst bei Temperaturen unter — 4° ist eine längere Haltbarkeit des Fleisches verbürgt. Für die Versendung von Säugetier- und Fischfleisch spielt das Gefrierenlassen eine sehr große Rolle. Für die beiden Fleischarten muß es aber verschieden durchgeführt werden, da nur das Säugerfleisch die Reifung nach der Schlachtung durchmachen darf, während das Fischfleisch durch einen Reifungsprozeß ungenießbar wird.

Das Fleisch der Rinder wird entweder unmittelbar nach dem Schlachten auf drei Tage in Kühlräume gebracht, deren Temperatur — 20° beträgt. Man bezeichnet diese Art des Abkühlens, die meist in Chicago geübt wird, als plötzliches Gefrierenlassen. Bis zum Transport verbleibt es nachher in festgefrorenem Zustande bei — 6°. Beim allmählichen Gefrierenlassen kommt das Fleisch nach kurzer Trocknung an der Luft in einen auf — 6° abgekühlten Raum, in dem es nach etwa 10—12 Tagen fest gefroren ist.

Bei der Kältekonservierung der Fische ist zur Vermeidung der Reifung sehr rasches Töten und Ausweiden derselben nach dem Fange und sofortiges Kühlen bei sehr tiefen Temperaturen unerläßlich.

Sobald das Fleisch aufgetaut ist, muß es möglichst bald verbraucht werden. Es hat sich gezeigt, daß für die Brauchbarkeit desselben die Art des Auftauens von großer Bedeutung ist. Fest gefrorenes Fleisch in großen Versandstücken braucht zum Aufbau 24—36 Stunden. Dasselbe soll in mäßig warmen, gut ventilierten Räumen geschehen, so daß jede Taubildung auf dem Fleische vermieden wird. Schlägt sich Feuchtigkeit

darauf nieder, so verdirbt es meist innerhalb weniger Stunden, während es sonst zwei bis drei Tage noch haltbar ist.

Viel haltbarer sind die durch **Trocknung** erhaltenen Fleischkonserven. Es ist dies übrigens ein schon von altersher geübtes Verfahren, das auch heute noch besonders in den heißen Ländern viel benützt wird. Die Trockenfischkonserven, wie der Stockfisch usw., sind allbekannt. Auch Rindfleisch konserviert man durch Trocknen an der Sonne, wie z. B. das carne secca in Brasilien erzeugt wird. Der Pemmican Nordamerikas ist ebenfalls eine durch Trocknung hergestellte Fleischkonserve, die aus Büffelfleisch, das nach dem Trocknen mit Büffelfett gemengt wird, bereitet ist. Die Fleischmehle sind nichts anderes als nach dem Trocknen gepulvertes Fleisch. Sie erhalten aber häufig noch verschiedene Zusätze. Sollen diese Konserven lange Zeit brauchbar und unverdorben erhalten bleiben, so müssen sie vor jedem Zutritt von Feuchtigkeit sorgfältig bewahrt werden.

Das **Räuchern von Fleisch** besteht darin, durch die Einwirkung des heißen Rauches von Laubhölzern dem Fleisch einen Teil seines Wassers zu entziehen und ihm dabei desinfizierende Stoffe aus dem Rauch zuzuführen.

Durch Räuchern werden in erster Linie Schweinefleisch, Würste und Fische und dann auch Pferdefleicsh und Wildbret konserviert. Im Hausbetrieb benützt man besondere Kamine zum Räuchern oder auch größere Räume, an deren Decke das zu räuchernde Fleisch aufgehängt und vom vorbeiziehenden Rauch bestrichen wird. Als raucherzeugende Hölzer kommen nur solche von Laubbäumen, meist Buchen, in Betracht, da infolge des großen Harzgehaltes die Nadelhölzer vollständig unbrauchbar sind. Der Rauch wird nun auch verschieden heiß angewendet, so daß man von einem kalten und warmen Räuchern sprechen kann. Die Dauer desselben ist ebenfalls verschieden und beträgt beim langsamen Räuchern entsprechend der Größe der Fleischstücke eine bis mehrere Wochen. Dabei steigt die Wärme nicht über 30°. Bei dem beschleunigten Räuchern werden Temperaturen bis 100° erreicht, während die Dauer desselben einige Stunden bis mehrere Tage beträgt. Die besten Ergebnisse erhält man mit dem meist üblichen ununterbrochenen Räuchern, da das weniger geübte unterbrochene Räuchern, bei dem die Rauchzufuhr nachts über unterbleibt, insofern leicht zu verdorbenen Produkten führt, als ein Beschlagen des Rauchfleisches während der Räucherpause nahezu unvermeidlich ist. Diese äußerliche, täglich mehrere Stunden dauernde Benetzung birgt, abgesehen von Neuinfektionen, auch die Gefahr der Entwicklung vorhandener Fäulniserreger in sich.

Beim Räuchern verlieren besonders die oberflächlichen Partien des Fleisches etwas von ihrem Wassergehalt und nehmen gleichzeitig Produkte des Rauches auf. Zur möglichsten Rauchentwicklung vermeidet man einen starken Luftzug, wodurch ein an Produkten der trockenen Destillation des Holzes reicher Rauch entsteht. Beim Buchenholz enthält derselbe neben Kohlensäure und Kohlenoxyd Aldehyde (Formaldehyd), Phenole, Kreosot usw. Es sind dies tatsächlich ziemlich kräftig desinfizierende Stoffe, die gewiß eine sehr starke Verminderung der oberflächlichen Mikrobenflora des Rauchfleisches herbeiführen. Es

sollen dabei besonders die Aldehyde der Fettreihe wirksam sein. Tief reicht diese Wirkung aber keinesfalls, da zahlreiche Versuche ergeben haben, daß durch das Räuchern im Innern des Fleischstückes vorhandene pathogene Mikroorganismen nicht mit Sicherheit vernichtet werden. Darauf ist besonders bei Würsten zu achten, wo die ganze Masse gleichmäßig infiziert sein kann. Hier bietet das Räuchern für eine Keimfreiheit im Innern und die Erhaltung derselben durchaus keine Sicherheit. Darum muß auch in bezug auf das Räucherfleisch und die Würste die Forderung erhoben werden, dazu nur Fleisch von gesunden Tieren zu verwenden. Dem Räuchern scheint übrigens eine sehr starke Nachwirkung auf die nach demselben noch lebend und entwicklungsfähig vorhandenen Mikroben zuzukommen, da bezügliche Untersuchungen dargetan haben, daß die Bakterienzahl beim längeren Lagern des Rauchfleisches erheblich abnimmt. Besonders keimarm sollen die geräucherten Fische sein.

Häufig und in unseren Ländern fast immer schickt man dem Räuchern ein Pökeln oder mindestens Einsalzen voraus, wodurch die Wirkung des ersteren sicher vergrößert wird. Das Pökeln und Einsalzen führt zu einem Wasserverlust. Derselbe soll wieder das Eindringen der Destillationsprodukte des Rauches erleichtern.

In den Großbetrieben finden jetzt vielfach sog. „Schnellräucherungsverfahren“ Anwendung, die aber kein annähernd so haltbares Produkt liefern. Bei denselben wird nicht mehr mit Rauch geräuchert; man bestreicht vielmehr einigemal die Stücke mit Lösungen von Holzessig, Kreosot und Wacholderöl oder legt sie in dieselben ein. Oft werden die Lösungen der genannten Stoffe auch nur verdampft und in den Dampf die Fleischstücke gehängt.

Die **Haltbarmachung von Fleisch durch Pökeln und Salzen** wird sowohl im Hausbetrieb als auch im großen häufig angewendet. Es eignen sich dazu aber nicht alle Fleischsorten gleich. Die besten Produkte geben Schweinefleisch und Geflügelfleisch, wie Gänsebrüste, und Fische. Fettes Rindfleisch und Pferdefleisch eignet sich ebenfalls dazu, während Hammelfleisch dabei eine faserige Beschaffenheit annimmt. Das Pökeln und Einsalzen wirkt einerseits stark wasserentziehend, wobei auch lösliche Bestandteile mit dem abgegebenen Wasser herausdiffundieren, anderseits dringen das Salz und die zur Pökellake gemachten Zusätze mehr oder weniger tief in das Fleiseh ein, entsprechend der Konzentration und der Zeitdauer der Einwirkung.

Die Salzgemische zum Pökeln und Einsalzen enthalten in erster Linie reichlich Chlornatrium, außerdem meist Salpeter und Zucker zur Konservierung der Fleischfarbe und schließlich Gewürze, wie Thymian, Wacholder, Pfeffer, Ingwer usw. Die früher erwähnte Erhaltung der roten Fleischfarbe ist eigentlich eine Wirkung der durch bakterielle Tätigkeit aus den Nitraten entstehenden Nitrite, die sich mit dem im Fleisch vorhandenen Blutfarbstoff in Stickoxyd-Hämoglobin umsetzen. Beim Kochen entsteht aus demselben dann Stickoxyd-Hämochromogen. In den Pökellaken findet immer eine Reduktion reichlicher Nitratmengen zu Nitrit statt.

Das Pökeln geschieht nun in der Weise, daß die Fleischstücke längere Zeit entsprechend ihrer Größe in eine Salzlösung eingelegt werden, die 12—27% Chlornatrium, 0,2—1% Kalisalpeter und etwa ebensoviel

Zucker enthält. Die einzelnen Betriebe haben meist ihre eigenen Rezepte, nach denen sie arbeiten, so daß man in dieser Hinsicht große Verschiedenheiten findet. Infolge des Stoffaustausches zwischen dem Fleisch und der Lake tritt eine erheblichere Wertverminderung des Pökelfleisches gegenüber dem rohen Produkte auf. Die Haltbarkeit gut und salzreich gepökelten Fleisches ist aber sehr groß. Die Pökellaken selbst enthalten trotz der hohen Salzkonzentration, die übrigens bei öfterem Gebrauche einer und derselben Lake sehr erheblich abnimmt, eine ziemlich reiche Bakterienflora. Außerdem vertragen pathogene Bakterien und ihre Sporen ebenfalls sehr große Salzmengen, bei denen sie allerdings ihr Wachstum einstellen bzw. nicht keimen, aber lange Zeit entwicklungsfähig bleiben. Ältere Laken scheinen trotz ihres geringen Salzgehaltes keimärmer zu sein, was vielleicht seine Ursache in einer Zunahme von Extraktionsstoffen aus dem Fleische und von Bakterienstoffwechselprodukten hat. Die gepökelten Fleischstücke werden auch bei diesem Verfahren in ihrem Innern nicht entkeimt, da in ihnen der Salzgehalt niemals solche Werte annimmt, wie sie in der sie umgebenden Lake herrschen.

Man hat auch Schnellpökelungsverfahren ersonnen, bei denen von großen Schlagadern aus dem geschlachteten Tieren eine konzentrierte Salzlösung eingepreßt und so im Körper verteilt wird oder dieselbe mit Injektionsspritzen zwischen die Muskulatur eingeführt wird. Man bringt auch häufig die Fleischstücke in einen luftverdünnten Raum, um so dieselben rasch zu imprägnieren. Auch unter Anwendung von höheren Drucken wird oft gearbeitet. Dabei kommt die Salzlake mit dem Fleisch in einen Kessel, in dem ein Überdruck von 3—4 Atmosphären herrscht.

Beim Einsalzen reibt man entweder die Fleischstücke öfter mit reinem Kochsalz oder einem Salzgemisch ein oder legt sie in große Fässer und steinerne Behälter lagenweise ein. Zwischen die einzelnen Fleischlagen kommt eine dünnere oder dickere Schicht von Kochsalz mit etwas Salpeter. Das aus dem Fleisch austretende Wasser löst das Salz und führt so zur Bildung einer allerdings geringeren Menge einer Salzlake. Die Salzheringe werden in Tonnen mit Seesalz fest gepackt. Auch diese Art der Konservierung, der ebenfalls dieselben Mängel wie dem Pökeln anhaften, führt nicht zu einem keimfreien Produkte, da sich trotz des reichlichen Salzgehaltes zahlreiche Mikroben entwicklungsfähig erhalten und besondere halophile oder salzliebende Mikroorganismen sogar ausgiebig vermehren.

Von einer Besprechung der Haltbarmachung durch Antiseptika können wir füglich absehen, da der Zusatz der für diesen Zweck vorgeschlagenen Stoffe, wie Borax, Borsäure, Formaldehyd und schweflige Säure, meist gesetzlich nicht gestattet ist. Anders verhält es sich mit denjenigen desinfizierenden Stoffen, die durch die Lebenstätigkeit von Mikroorganismen erzeugt werden. An dieser Stelle sei an die früher besprochene Herstellung der Gemüsekonserven durch Essig- und Milchsäure bildende Bakterien erinnert. Auch der Äthylalkohol, dessen antiseptische Wirkung vielfach in der Konservierungstechnik angewendet wird, spielt in dieser Hinsicht eine große Rolle. Auch Fische werden mitunter durch bakterielle Produkte konserviert. Eine solche Fischkonserve sind die „Gärfische“, die

im nördlichen Schweden aus verschiedenen Fischarten unter Salzzusatz hergestellt werden. Sie werden durch Gärenlassen der Gärströmlinge in größeren Fässern in einer wenig Kochsalz enthaltenden Lake an der Sonne bereitet. Dabei muß der Verlauf der Gärung kontrolliert werden und bei zu stürmischem Verlauf derselben das Faß an einen kühleren Ort gebracht werden. Nach vier bis fünf Wochen ist die Konserve fertig und kommt mit der Lake, in kleinere Fässern gepackt, in den Handel. In diesem Zustande halten sich die Gärfische ziemlich lange. Sobald das Fäßchen aber eröffnet ist, müssen sie rasch verzehrt werden, da sie alsbald dem Verderben unterliegen. Sie besitzen einen äußerst scharfen Geruch und Geschmack, der sie vielen Menschen ekelhaft macht. Es handelt sich bei dieser Fischkonserve eigentlich um eine Art gefaulter Masse, in der sich auch zahlreiche Fäulnisprodukte nachweisen lassen, unter denen aber Indol, Skatol, Phenol, Kadaverin und Putreszin fehlen. Darum kann man auch diesen Zersetzungsprozeß nicht kurzweg als Fäulnis bezeichnen. Derselbe verläuft unter Gasbildung. Das Gasgemisch besteht aus Methylmerkaptan, Kohlensäure und Schwefelwasserstoff, weshalb diese Konserve auch stinkt. Im fertigen Produkt findet man zahlreiche flüchtige und nichtflüchtige Fettsäuren, dann Trimethylamin, Dimethylamin, Methylamin, Ammoniak, Leuzin, Cholin und Spuren von Äthylalkohol und Azeton.

Für die Herstellung kürzere Zeit hindurch haltbarer Nahrungsmittel bedient man sich der zusammengesetzten Konservierungsmethoden, die besonders im Haushalte immer Anwendung finden. Hier handelt es sich nicht mehr um eigentliche Konserven, sondern um eine Haltbarmachung für wenige Tage. Gewöhnlich bewahrt man die gekochten Speisen in der Kälte auf. Das Kochen besorgt die Vernichtung aller vegetativen Mikroorganismenformen, während die Kälte die Entwicklung der restierenden keimfähigen Sporen und später während der Aufbewahrung hineingelangten Mikroben verhindert. Für kurze Zeit genügen dafür die zwischen + 4 und + 6° liegenden Eiskastentemperaturen. Es werden zwar die Speisen bei der Aufbewahrung meist zugedeckt; die verwendeten Deckel sorgen aber niemals für einen bakteriendichten Verschluß. Deshalb findet im Haushalte immer eine ausgiebige Infektion der aufbewahrten Speisen statt. Infolge der kurzen Aufbewahrungsdauer und der dabei herrschenden niedrigen Temperatur werden sich nur psychrophile Mikroorganismen ausgiebiger entwickeln, die aber kaum zum Verderben der Speisen führen und deren Tätigkeit für gewöhnlich gar nicht in Erscheinung tritt.

Von besonderer Bedeutung ist nun die Aufbewahrung und Haltbarmachung des neben Brot und Fleisch wichtigsten Nahrungsmittels, der **Milch**. Es werden ja Milchkonserven in großer Menge als „kondensierte", „homogenisierte" und „trockene Milch" in den Handel gebracht. Diese für viele Zwecke sehr brauchbaren Dauermilcharten sind relativ als keimarm und die homogenisierte Milch sogar als keimfrei zu bezeichnen. Ihres höheren Preises wegen sind sie an Stelle frischer Milch schon nicht allgemein gebräuchlich, abgesehen davon, daß infolge der Herstellung eine tiefgehende Veränderung der Milch herbeigeführt wird. Es ändern sich dabei die chemisch faßbaren Bestandteile zwar sehr wenig, wohl aber die Enzyme und andere in der frischen Milch vor-

handenen Stoffe, so daß die aus den Milchkonserven hergestellte Gebrauchsmilch nicht mehr einer frischen Milch gleichkommt. Für die Ernährung der Erwachsenen spielt dies nur eine untergeordnete Rolle, für die des Säuglings aber die allergrößte.

Nachdem leider in unserer Zeit ohne jeden zwingenden Grund in vielen Fällen die Mütter ihre Kinder überhaupt nicht stillen, so wird die „künstliche Ernährung" der Säuglinge notwendig. Anerkanntermaßen eignet sich dafür die Tiermilch, wenn sie auch nie und nimmer einen auch nur annähernden Ersatz für die Frauenmilch zu geben vermag. Die Haltbarmachung der Säuglingsmilch für die nächsten 24—36 Stunden ist nun von der größten Bedeutung. Dazu verwendet man im allgemeinen eine verhältnismäßig nur kurz dauernde Erhitzung, die ausschließlich zur Vernichtung von vegetativen Bakterienformen führt und dementsprechend auch etwa vorhandene menschenpathogene Mikroorganismen tötet, sofern sie sich nicht im Sporenstadium befinden. Dann wird eine möglichst kühle Aufbewahrung in entsprechenden Gläsern durchgeführt.

Von Planner-Wildinghof hat in einem sehr lesenswerten kleinen Büchlein, „Das Kind, der Mutter Glück, der Mutter Sorge", in klarer und gemeinverständlicher Weise u.a. auch die Säuglingsmilch und ihre Aufbewahrung mustergültig behandelt. Nach ihm soll die Milch, selbstverständlich rein gewonnene, tadellose Kuhmilch, kühl zum Hause des Konsumenten transportiert werden. Die so einwandfrei gelieferte Milch muß nun von letzterem auch einwandfrei erhalten werden. Die ins Haus gebrachte Milch muß sofort abgekocht werden, indem sie bis zum einmaligen Aufwallen erhitzt wird. Dann ist dieselbe möglichst rasch durch Einsetzen des Topfes in fließendes, kaltes Wasser zu kühlen. Die abgekochte Milch ist nun an einem kühlen, reinen Orte aufzubewahren, wofür sich am besten eine eigene Abteilung im Eisschrank eignet, die klein und rings von Eis umgeben sei. Man darf sie mit Speisen und anderen rohen Nahrungsmitteln nicht gemeinsam im Eisschrank kühl halten, da sie fremde Gerüche leicht annimmt und der gewöhnliche große Eiskastenraum auch zu wenig tief temperiert ist. Am einfachsten ist es, das Gefäß mit der Milch direkt in das Eis des Kastens einzustellen. Im Winter muß man darauf achten, daß die Milch nicht einfriert, da sie dadurch sehr verändert wird. Im Sommer soll wohl immer zur Eiskühlung die Zuflucht genommen werden. Bei gänzlichem Eismangel kann man sich auch dadurch helfen, daß man die Milch nach dem Abkochen in eine sorgfältig mit heißem Wasser gereinigte trockene, innen rillenfreie Flasche füllt und diese mit schlechten Wärmeleitern, wie Stroh u. dgl., umgibt und an einem kühlen Orte vergräbt. Die Thermosflaschen, welche heute schon zu billigen Preisen erhältlich sind, eignen sich für die kurzdauernde Milchkonservierung ausgezeichnet. Man muß natürlich die nach dem Kochen in Eis gekühlte Milch in die ebenfalls gekühlte trockene Flasche eingießen und dieselbe bei tiefer Temperatur im Keller aufstellen. Durch ca. 16—24 Stunden läßt sich damit die Milch sogar im Hochsommer tadellos erhalten.

Von großer Bedeutung für die Haltbarkeit der Säuglingsmilch und Milch überhaupt ist das verwendete Kochgeschirr und das Aufbewahrungsgefäß. Am besten eignen sich zum Kochen und Aufbewahren der Milch Töpfe aus Steingut, die ausschließlich für diesen Zweck verwendet werden. Diese Gefäße müssen nach

jedem Gebrauch sofort einer gründlichen Reinigung unterzogen werden. Zuerst werden dabei durch Spülen am Brunnen oder bei der Wasserleitung alle Milchreste entfernt und dann erst die Gefäße mit kochender Sodalösung gewaschen. Nach einer weiteren oftmaligen Spülung mit reinem Leitungs- oder Brunnenwasser werden sie am besten auf Stäben aufgehängt, damit das Wasser ablaufen kann. Hier sei nochmals auf das über die Reinigung der Molkereigeräte Gesagte verwiesen. Für die Verabreichung der Säuglingsmilch sollen aus diesen Gründen nur Flaschen verwendet werden, die innen weder Kanten, Rinnen, Vorsprünge u. dgl. aufweisen, noch Maßstriche besitzen. In der Figur 164 [1]) sind von Planner-Wildinghof empfohlene und anerkannt ausgezeichnete Trinkflaschen für Säuglinge abgebildet, wie sie nach dem Reinigen auf einem zweckmäßigen Abtropfbrett zum Trocknen aufgehängt sind. Dieselben weisen im Innern die früher geschilderten Mängel schlechter Milchgläser nicht auf und besitzen überdies einen halbkugeligen Boden, welcher jedes Hinstellen unmöglich macht. Dies kann nur als besonderer Vorteil betrachtet werden, weil dadurch ein Herumstehenlassen gebrauchter Flaschen vermieden wird. Solche Flaschen erzeugt die Firma C. Stölzels Söhne in Wien.

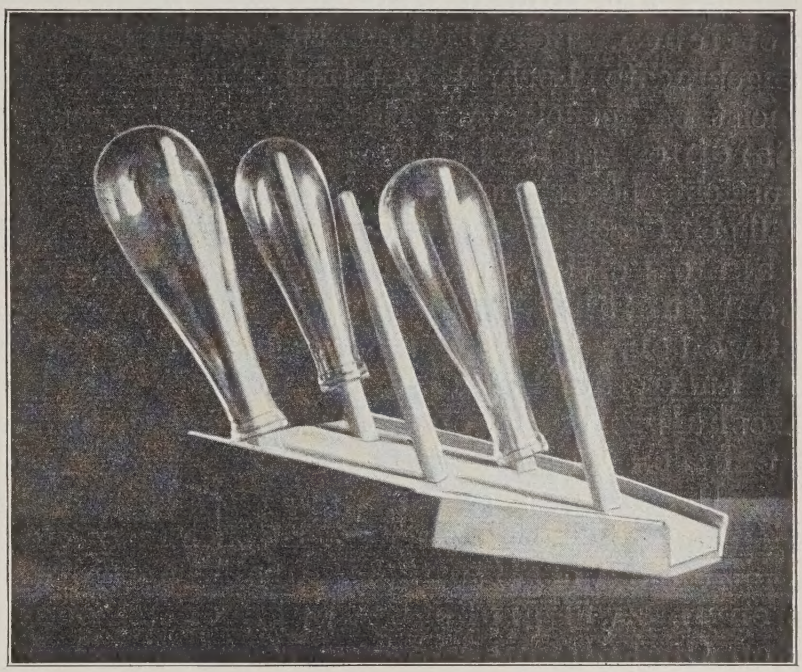


Fig. 164.

Die durch einmalige Erhitzung, Kühlung und Kaltaufbewahrung haltbar gemachte Milch muß unmittelbar vor dem Genusse nochmals aufgekocht werden. Sie darf dabei ebenfalls nur einmal aufwallen.

Sehr geeignet für die Frischhaltung der Milch ist auch der Sterilisierapparat von Soxhlet. In demselben soll die Milch nur so lange kochen, bis sie in den Fläschchen einen Waller gemacht hat. Die frische, eben ins Haus gelangte Milch wird in die für den Säugling passenden Portionen abgeteilt und in Gläser gefüllt. Dieselben werden mit einer geschlitzten Kautschukkappe verschlossen. Der Verschluß ist demjenigen Stutzers, der in Figur 160 abgebildet und dort beschrieben ist, sehr ähnlich. Die Milch muß natürlich auch in diesem Falle nach dem Kochen rasch in fließendem kalten Wasser gekühlt und kühl aufbewahrt werden. Daß beim Betrieb dieses Apparates dieselbe Reinlichkeit herrschen muß wie sonst, braucht wohl nicht erst besonders hervorgehoben zu werden.

1) Die Abbildung stammt aus dem früher zitierten Buche des genannten Autors.

Wie wir schon früher bei der Besprechung der außerordentlich lange haltbaren Fleischkonserven in Büchsen hörten, muß von diesen eine völlige Keimfreiheit verlangt werden. Nur dann ist ein Verderben wirklich ausgeschlossen. Die bakteriologische Untersuchung von solchen Fleischkonserven hat aber ergeben, daß immer eine Anzahl von Konserven bakterienhaltig ist. Die vorgefundenen Arten führen meist über kurz oder lang zu einem Verderben des Inhalts. In der Regel verrät schon das Aussehen der Büchsen den infizierten und verdorbenen Inhalt. Die meisten aus Konserven gezüchteten Bakterien sind anärobe Gasbildner und das von ihnen erzeugte Gas führt zur sog. „Bombage" der Büchsen. Letztere werden in diesem Falle besonders am Boden und Deckel mehr oder weniger stark aufgetrieben. Beim Eröffnen spritzt eine solche Konserve kräftig aus dem angebrachten Loch. Es entströmt ihr auch bei vorgeschrittener Zersetzung meist ein penetranter Gestank. Man findet aber auch besonders bei Sardinen stark bombierte Büchsen, deren Inhalt kaum verändert aussieht, höchstens etwas trockener ist und kaum einen irgendwie auffälligen Geschmack aufweist. Trotzdem muß als Regel ohne Ausnahme gelten, jede bombierte Konserve als verdorben und genußunfähig zu bezeichnen und aus diesen Gründen zurückzuweisen. Der Genuß verdorbener Fisch- und Fleischkonserven kann zu außerordentlich schweren und oft tödlichen Erkrankungen führen, weshalb nur irgendwie verdächtige Konserven nicht mehr genossen werden dürfen.

Überhaupt sind **Bakteriengifte in Nahrungsmitteln**, die von Tieren stammen, keine allzu seltene Erscheinung. Es stehen auch hier an der Spitze die Vergiftungen durch Fleischwaren. Dieselben können in zwei große Gruppen entsprechend der Wirkung auf den Organismus unterschieden werden. Bei der ersten Gruppe der Fleischwarenvergiftungen treten nervöse Erscheinungen in den Vordergrund, indem das dieselben bedingende Bakteriengift die Nervenzentren heftig angreift. Hierher gehören die Wurstvergiftungen. Ähnliche oder gleiche Erscheinungen werden aber auch oft nach dem Genusse von Schinken usw. gefunden. Der Magen-Darmtrakt wird von diesen Bakterien und ihren Giften nicht weiter irritiert, während Lähmungen, Sehstörungen, Schlingbeschwerden usw. das Krankheitsbild beherrschen. Meist tritt ein tödlicher Ausgang der Krankheit ein. Dieselbe bezeichnet man kurzweg als Botulismus oder Allantiasis. In dieselbe Kategorie von Erkrankungen gehört auch der Ichtyosismus oder die Fischvergiftung, deren Auftreten besonders nach dem Genusse gesalzener Fische beobachtet wird. Wie schon angedeutet, handelt es sich bei diesen Erkrankungen um reine Vergiftungen, die durch Bakterientoxine hervorgerufen werden. Die Bakterien selbst haben aber nicht die Fähigkeit, sich im Tierorganismus während des Lebens zu vermehren. Sie sind also für den Menschen nicht infektiös oder pathogen, sondern erzeugen bei ihrem anäroben Wachstum in Nahrungsmitteln das Gift, nach dessen Genuß in kleinsten Mengen schon die Erkrankung eintritt. Mit van Ermengem kann man diese Gruppe von Bakterien als diejenige der „toxigenen Saprophyten" bezeichnen. Sie sind auch keine Fäulniserreger, die irgendwelche tiefen Verände-

rungen des Nährbodens herbeiführen. Man hat nun aus solchen vergifteten Nahrungsmitteln sporenbildende Bakterienarten reingezüchtet, die einander sehr nahe stehen oder besser als eine Art, Bacillus botulinus, angesprochen werden. Es ist ein anärobes Stäbchenbakterium mit endständigen Sporen, das sich am besten bei etwa 22—25° C entwickelt.

Bei diesen Temperaturen in leicht alkalischen Nährsubstraten gezüchtet, vermehrt es sich gut und erzeugt sein furchtbares Gift, während die geringste Menge freier Säure sein Wachstum gänzlich unterdrückt. Auch ein Kochsalzgehalt von 5—7% verhindert jede Vermehrung. Die Sporen des Bacillus botulinus sind nicht besonders widerstandsfähig, da eine einstündige Erwärmung auf 80° dieselben schon sicher vernichtet.

Das Botulinustoxin ist außerordentlich giftig und wirkt sowohl in die Blutbahn oder unter die Haut gebracht als auch vom Magen aus. Alkalien zerstören dasselbe rasch und in geringen Konzentrationen, denn der Zusatz einer 3proz. Sodalösung macht es augenblicklich unwirksam. Säuren sind weniger wirksam. Eine Temperatur von 80° durch eine halbe Stunde angewendet, macht es unwirksam.

Die Verhütung des Botulismus ist insofern leicht zu erreichen, als man jeden Genuß von rohen Fleisch-Nahrungsmitteln unterläßt, die günstige Bedingungen für die Entwicklung dieser Anärobier aufweisen. Dies gilt ganz besonders für Schinken, Leber- und Blutwürste oder besser überhaupt Würste, Büchsenkonserven, Salzfische usw.

Die zweite Gruppe von Fleischvergiftungen ist gekennzeichnet durch die den Magen-Darmkanal betreffenden schweren Krankheitserscheinungen. Es kommt dabei zu einer heftigen Magendarmentzündung, die oft tödlich verläuft. Fleisch, welches solche Vergiftungen verursacht, zeigt meist gar keine oder nur höchst geringe Fäulniserscheinungen. Erst sehr spät kommt es zu einer typischen Fäulnis. Bacterium vulgare ist ein Erreger dieser Art von Vergiftung. Es entwickelt sich auch im Organismus der Erkrankten und erzeugt vorwiegend Endotoxine, die erst beim Absterben dieses Mikroben in die Säftebahn gelangen und zur Vergiftung führen. Diese Toxine sind sehr wenig kochfest und werden schon nach kurzen Erhitzungen unwirksam. Die Vertreter der Gruppe Bacterium vulgare kommen durch nachträgliche Infektion in das gesund geschlachtete Fleisch. Verwandte des Bacillus coli, Bacillus paratyphosus, Bacillus enteritidis und ihnen nahestehende Arten finden sich immer im Fleisch krank geschlachteter Tiere und erzeugen ebenfalls die oben genannten Krankheitserscheinungen. Auch diese Arten vermehren sich im Organismus und erzeugen dort Ekto- und Endotoxine, welche aber auch im befallenen Fleisch reichlich gebildet werden. Dabei kommt es durchaus zu keiner Fäulnis. Diese Toxine sind sehr hitzebeständig und scheinen sogar durch kurzes Kochen nicht zerstört zu werden.

Ob die schwer verlaufende und meist tödliche Muschelvergiftung auf die Bildung des Ptomaines Mytilotoxin allein zurückzuführen ist oder auch Bakterientoxine dabei eine besondere Rolle spielen, ist noch nicht sichergestellt. Wahrscheinlich macht letztere Ansicht der Befund von Vertretern der Coli- und Proteusgruppe bei solchen Vergiftungen.

X. Kapitel.

Mykologie des Wassers.

Aus der Erkenntnis heraus, daß in vielen Fällen von schweren Epidemien das Wasser der Verbreiter derselben war, hat man der Mykologie des Wassers schon lange die entsprechende Aufmerksamkeit zugewendet. Im allgemeinen unterscheidet man praktisch zwischen Trinkwasser, Nutzwasser und Abwasser von gewerblichen und industriellen Betrieben und Anlagen. Es liegt in der Natur der Wassergewinnung, daß häufig eine gegenseitige Beeinflussung dieser Wassergruppen in äußerst unerwünschter Art eintritt. Wenn auch das aus dem Erdinnern in den Quellen austretende Wasser außerordentlich arm an Organismen ist, so ändert sich dieses Bild doch sofort in den von diesen Quellen gespeisten Brunnen und Wasserläufen. Diese sind ständigen natürlichen Verunreinigungen ausgesetzt. In die Flußläufe werden ja auch die Abwässer der an denselben gelegenen Anlagen eingeleitet. Dazu kommen noch die menschlichen und tierischen Exkremente, abgesehen von den Leichen und Abfallstoffen der im Fluß selbst lebenden Tiere und Pflanzen.

1. Mykologie des Trinkwassers.

Der erwachsene Mensch gibt in seinen Ausscheidungen, also im gesamten Stoffwechsel im Durchschnitt täglich zwei bis drei Liter Wasser ab. Diese Menge muß auch täglich wieder ersetzt werden. Dies geschieht einerseits durch die Nahrung, welche immer sehr wasserreich ist, und anderseits durch unmittelbare Aufnahme als Trinkwasser. Man war von altersher bestrebt, ein reines und wohlschmeckendes Trinkwasser für den Menschen zu beschaffen. Man hat auch im Altertum keine Mühe und Kosten gescheut, einwandfreies Trinkwasser selbst durch lange Zuführungen dem Haushalte der Menschen zugänglich zu machen. Es sei nur an die Wasserleitung des Kaisers Valens in Konstantinopel erinnert. Diese Reinheit des Wassers muß man aber nicht nur für Trinkzwecke, sondern auch für alle häuslichen Gebrauchszwecke fordern, wie Reinigung der Eß- und Trinkgeschirre, Badezwecke usw.

Der Nahrungsmittelchemiker fordert vom Trinkwasser und dem für menschliche Gebrauchszwecke bestimmten Wasser, daß es klar, geruch- und geschmacklos, farblos, gleichmäßig kühl temperiert, angenehm schmeckend und erfrischend sei. Außerdem darf es keine Bestandteile enthalten, welche irgendwie gesundheitsschädlich wirken.

Dementsprechend muß seine chemische und biologische Zusammensetzung sein. Uns interessiert in erster Linie letztere. Der Gehalt an Mikroorganismen wird nun wesentlich von der Herkunft des Wassers und seiner Aufsammlung vor dem Konsum beeinflußt.

Zur Trinkwasser- und ihr gleichzuhaltenden häuslichen Gebrauchswasserversorgung werden herangezogen: 1. Das aus dem Erdinnern, aus der Tiefe künstlich gewonnene Grundwasser, 2. Tiefenwasser, das freiwillig die Erdoberfläche in Form der Quellen erreicht, also Quellwasser, und endlich 3. das auf der Erdoberfläche fließende oder stehende Wasser (Fluß-, Binnensee- und Teichwasser), das man als Oberflächenwasser bezeichnet.

Das Quell- und Grundwasser ist im allgemeinen biologisch nicht verunreinigt und kann bei entsprechender Tiefe als steril bezeichnet werden. Eine Reinigung des Grundwassers von etwa vorhandenen Organismen ist daher nicht notwendig. Sofern es sich nach seiner chemischen Zusammensetzung überhaupt zum Trinkwasser eignet, kann es höchstens durch einen zu großen Gehalt an kohlensaurem und humussaurem Eisenoxydul verunreinigt sein. Dies gibt dem Wasser einen tintenartigen bitterlichen Geschmack, der es weniger genußfähig macht. Außerdem kann das Grundwasser einen geringen Gehalt an Schwefelwasserstoff aufweisen, der es übelriechend macht. Infolge Zutrittes von Luftsauerstoff findet eine rasche Enteisenung statt, da die oben genannten Eisenverbindungen als Eisenoxydhydrat ausgeschieden werden. Beim Stehen verliert sich auch der Schwefelwasserstoffgeruch alsbald. Für Großbetriebe hat die Technik auch besondere, sehr wirksame Enteisenungsverfahren erfunden und herausgebildet, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll.

Wenn dagegen Oberflächenwasser jeglicher Art zur Trinkwasserversorgung dienen soll, dann muß eine sicher funktionierende Reinigung desselben vorgenommen werden. Jedes Oberflächenwasser enthält neben Schwebestoffen organischer und unorganischer Natur noch reichlich Mikroorganismen. Selbst im reinsten Flußwasser, dem verunreinigende Zuflüsse vollkommen fehlen, ist die Zahl der nachweisbaren Bakterien eine recht beträchtliche. Die Anwesenheit dieser normalen Wasserbewohner bedeutet aber keineswegs eine schädliche Verunreinigung. Erst die in den Fluß von den Siedlungen kommenden Zuflüsse und Kanäle führen neben reichlichen Bakterienmassen auch eine erhebliche Menge toter organischer Substanz zu, wodurch die Flora und Fauna des Wassers wesentliche Änderungen erfährt. Die Keimzahl wird in der Volumseinheit mächtig ansteigen und auch die Qualität der Mikroben wird dadurch geändert werden. Die von den verschiedenen Abwässern stammenden löslichen organischen Verbindungen geben eben einen selbst in großer Verdünnung noch brauchbaren Nährboden ab. Von einschneidender Bedeutung sind übrigens die mit den Abwässern in den Fluß gelangenden pathogenen Mikroben; dieselben vermehren sich zwar in dem für sie jedenfalls schlechten Nährboden nicht, doch bleiben sie lange entwicklungs- und infektionsfähig, also virulent. Es sei hier an die mit Sicherheit nachgewiesene Verbreitung von Cholera durch das Wasser selbst großer Flüsse hingewiesen. Der Choleraerreger, der sich in den Defäkationen Cholerakranker in ungeheurer Anzahl findet, erhält sich in dem organisch verunreinigten Flußwasser lange Zeit virulent.

Jedenfalls muß jedes Oberflächenwasser, das dem menschlichen Genuß oder Gebrauch zugeführt wird, einerseits von den pathogenen Mikroben befreit und andererseits möglichst frei von toter organischer Substanz gemacht werden. Für diese Wasserreinigung im großen bei der Versorgung von Städten mit Oberflächenwasser kommt die Filtration desselben in erster Linie in Frage. Dabei ahmt man möglichst jene Vorgänge nach, die sich in der Natur beim Einsinken des Meteorwassers in den Boden abspielen, so daß ein dem Grundwasser annähernd ähnliches Produkt zustande kommt. Als Filtermaterial wird vorwiegend Sand benützt, der von oben nach unten im Filter an Korngröße zunimmt und schließlich in Schichten von walnuß- bis kopfgroßen Steinen übergeht. Im wesentlichen sind diese Sandfilter gleich aufgebaut. Sie bestehen aus offenen oder gedeckten rechteckigen Bassins, die im Erdboden versenkt und von unten nach oben bis etwas über ein Drittel der Höhe mit Schichten von groben Steinen, Kies und Sand als Filterkörper angefüllt sind. Die Wasserzuführungsöffnung befindet sich oberhalb der letzten Filterschicht in der Mitte einer Schmalwand. Das Wasser wird nach Durchrieselung der Filterschichten in einem Sammelkanal durch zahlreiche Nebenkanäle gesammelt und von dort als Reinwasser dem Filterbrunnen zugeführt. Das Reinwasserzuführungsrohr leitet das Wasser in das sog. Aufstandsrohr des Filterbrunnens, welches in letzterem lotrecht steht und bis zur Füllmaterialhöhe emporreicht. Es liegt daher der Überlauf des Aufstandsrohres in der Höhe der Sandschichtoberfläche, so daß kein höherer Überdruck selbst bei voll geöffneten Schiebern entstehen kann, als der Wasserstandshöhe über der Filterschicht entspricht. Das im Filterbrunnen einfließende Reinwasser gelangt dann durch eine besondere Rohrleitung zum Reinwassersammelbecken, von wo es den Verbrauchern zugeführt wird.

Im allgemeinen äußern die Sandfilter ihre Wirkung in dreifacher Weise. Sie fungieren als mechanische Reiniger, indem sie alle Schwebeteilchen von Dimensionen, die größer als die Porenweite sind, zurückhalten. Die kleinsten Teilchen, wie Tonpartikelchen, Bakterien usw. werden rein mechanisch jedoch nicht zurückgehalten. Das bereits gereifte Filter hat erst eine biologische Wirkung, die darin besteht, Mikroorganismen möglichst vollständig zurückzuhalten. Die Reifung des Filters kommt dadurch zustande, daß sich die sog. Filterhaut bildet. Darunter versteht man eine dünne, sich auf dem Filter aus den Schwebestoffen ansammelnde Decke. Die Schwebestoffe des Oberflächenwassers bestehen zum großen Teil aus organischen Substanzen, wie lebende und tote pflanzliche und tierische Organismen. Dementsprechend ist die Filterhaut für die weitere Entwicklung von anspruchsloseren Fäulnisbakterien ein sehr geeigneter Nährboden. Man beobachtet daher in der Filterhaut zuerst ein starkes Ansteigen der Bakterienzahl gegenüber jener des Rohwassers. Von der Filterhaut wandern die beweglichen Bakterienarten aktiv in die tieferen Filterschichten ein, unbewegliche werden passiv vom Wasserstrom hineingespült. Ein großer Teil setzt sich an den Körnern des Filters fest und trägt so zur Verkleinerung der Filterporen bei. Es kommt so allmählich zu einer Verschleimung des Sandes. In diesem Zustande wird das Filter als „reif“ bezeichnet. Erst jetzt ist es befähigt, die Mikroorganismen des Rohwassers fast quantitativ zurückzuhalten. Die Verwendung

vollständig sterilisierten Sandes zur Herstellung der Füllkörper ist nicht angebracht, da in diesem Falle die als „Anhängepunkte" für die in das Filter eintretenden Mikroben wirkenden Bakterien auf den Sandkörnchen fehlen. Die Reifung ist dadurch wesentlich erschwert. Es genügt daher für diese Filterzwecke ein in reinem Wasser gewaschener Sand. Da die Sandfilter nicht unbedingt bakteriendicht sind, kann immerhin ein Übergang von pathogenen Mikroorganismen vom Rohwasser in das Reinwasser erfolgen. Die Möglichkeit ist jedenfalls gegeben, die Wahrscheinlichkeit des Durchschnittes jedoch gering. Einerseits befinden sich selbst in stark verunreinigtem Oberwasser die hineingelangten pathogenen Keime stets in großer Minderzahl gegenüber den Wasserbakterien, und anderseits sind die Bedingungen für eine Vermehrung der pathogenen Organismen im Filter selbst höchst ungünstig. Jedenfalls muß beim Eintritt von durch Wasserläufe verschleppbaren Epidemien eine ständige bakteriologische Kontrolle des Reinwassers und jedes einzelnen Filters einsetzen.

Schließlich ist noch die chemische Wirkung der Sandfilter anzuführen, die sich aber nur wenig bei der Wasserreinigung bemerkbar macht. Es fehlen die dazu notwendigen Sauerstoffmengen.

An Stelle des losen Sandes verwendet man auch Filterelemente aus entsprechend porösem Kunststein. Kurz erwähnt seien auch die sog. Schnellfilter, bei denen als Füllmaterial außer Sand auch Kohle und Koks Verwendung finden.

Für kleine Hauswasseranlagen, die durch Oberflächenwasser gespeist werden, greift man zu den sog. Hausfiltern, die in den verschiedensten Konstruktionen unter Zuhilfenahme von Kieselgur, Asbest, Porzellan, Ton usw. als Filtermaterial angefertigt werden. Im wesentlichen handelt es sich dabei um Druckfilter, bei denen das Wasser entweder durch die Filtermasse gesaugt oder aber hindurchgedrückt wird. Im übrigen sei auf die Ausführungen in dem Abschnitt über Entkeimung durch Filtration verwiesen (Seite 494).

Im Anhange zu den Oberflächenwässern muß auch auf jene Trinkwasserversorgung kurz eingegangen werden, bei denen Meteorwasser, also Regenwasser, unmittelbar in Zisternen und Behältern gesammelt wird, um den Bedarf in der regenlosen Zeit zu decken. Solches Meteorwasser ist immer in größerem oder geringerem Grade fäulnisfähig, da in ihm der Staub der Atmosphäre samt seinen Keimen mitgerissen und auch alle Unreinlichkeiten der Zulaufrinnen und sammelnhen Oberflächen hineingeschwemmt werden. Um solches Zisternenwasser den häuslichen Gebrauchs- und Genußzwecken gefahrlos zuführen zu können, muß es vorher einer durchgreifenden Sterilisation durch ultraviolettes Licht oder durch chemische Mittel, wie Ozon, unterzogen werden. Es soll eine möglichst weitgehende Oxydation der organischen Bestandteile und eine Abtötung der Organismen erreicht werden. Die einfache Filtration reicht wegen der in nicht unbedeutenden Mengen sich einstellenden löslichen Fäulnisprodukte allein nicht aus. Man wird übrigens nur im Notfalle zu einer Wasserversorgung durch Zisternenwasser greifen.

2. Selbstreinigung des Wassers und Abwassermykologie.

Ohne auf die geschichtliche Entwicklung und wissenschaftliche Begründung der Selbstreinigung der offenen Gewässer näher einzugehen, sei die Tatsache hervorgehoben, daß in der freien Natur ohne jedes Zutun des Menschen, besonders in der wärmeren Jahreszeit, selbst in größeren Mengen in das Wasser eingebrachte Schmutzstoffe organischer und auch anorganischer Natur sich alsbald verändern und schließlich mehr oder minder vollständig verschwinden. Dafür sind einerseits chemische, anderseits biologische Vorgänge als Ursache erkannt. Letztere erfordern unsere besondere Beachtung, sind aber von den ersteren keineswegs zu trennen, denn beide arbeiten sozusagen Hand in Hand und beeinflussen sich gegenseitig in hohem Maße. Rein chemische Vorgänge beziehen sich in erster Linie auf die Schaffung einer neutralen Reaktion, bzw. Abstumpfung freier Säuren und auf Oxydationsvorgänge, die auf den durch die Durchlüftung fließenden Wassers in dasselbe gelangenden Sauerstoff und auf den bei der Assimilation der im Wasser vegetierenden grünen Pflanzen im Lichte frei werdenden Sauerstoff zurückzuführen sind. Die biologischen Vorgänge gehen auf Spaltpilze, Fadenpilze und tierische Organismen zurück, deren Menge und Arten in erster Linie von der Beschaffenheit des betreffenden Wassers abhängen.

Wenn man das Fluß-, See- oder Teichwasser auf seinen Gehalt an mikroskopischen und makroskopischen Organismen untersucht, so findet man erhebliche Unterschiede, die einerseits von der natürlichen Reinheit des Wassers und anderseits von der Menge der eingebrachten Schmutz- und Sinkstoffe in erster Linie abhängen und weiter durch die Schnelligkeit und Wassermenge eines Flusses ebenfalls beeinflußt werden. Größere Mengen grober, in großen Brocken eingebrachter Nahrungsstoffe und Abfälle, wie sie aus Schlachthäusern, Küchen, Gerbereien usw. stammen, werden in erster Linie von Fischen und anderen höheren Organismen verarbeitet, während die gelösten Nahrungsstoffe Kleinlebewesen, Pilzen und Bakterien, zur Nahrung dienen. Das gleiche gilt für die Exkremente der Land- und Wassertiere. Selbst große Verdünnungen genügen noch, um die Pilzflora in reichlichem Maße aufkommen zu lassen. Wir können aber im allgemeinen sagen, daß mit der Zunahme der Verunreinigungen organischer Natur immer auch ein Ansteigen der Pilzmenge im Wasser zu beobachten ist. Wir haben schon die abbauende Tätigkeit der Bakterien und auch höherer Pilze kennen gelernt. Mit Hilfe ihrer Enzyme spalten sie alle gelösten organischen Verbindungen und greifen in hohem Maße auch ungelöste an. Die Menge der zersetzten Substanz übertrifft meist sehr erheblich diejenige der daraus aufgebauten Pilzsubstanz. Der Abbau der Eiweißstoffe und der Kohlehydrate erfolgt meist sehr tief, bis zu Wasser und gasförmigen flüchtigen Produkten, wie Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff, Ammoniak usw. Letztere Verbindungen verschwinden aber alsbald aus dem Wasser. Bei einer nicht zu starken Konzentration der organischen Schmutzstoffe im Wasser verläuft dieser Prozeß des völligen oder teilweisen Abbaues der gelösten Stoffe und auch der sich am Boden ansammelnden Sinkstoffe ziemlich rasch und ohne erhebliche oder überhaupt merkbare Anhäufung der gebildeten Abbauprodukte. Wir haben dabei ein gleichzeitiges Auftreten

von Gärungen, Fäulnis- und Verwesungsvorgängen vor uns, das allerdings bei gehäufter Menge von organischer Substanz und ständiger Zufuhr großer Mengen auch die Freimachung enormer Mengen von Abbauprodukten bedingt, wodurch eine erhebliche Beeinträchtigung und Verunreinigung der Luft in der Umgebung solcher Schmutzwässer hervorgerufen wird. Noch mehr tritt das natürlich in mit Abfallstoffen überladenen, stagnierenden Gewässern, wie Teichen, in Erscheinung. Aber nicht nur die Pilzflora ist am Reinigungswerk des Wassers beteiligt, sondern auch Algen und höhere Wasserpflanzen, die unter Tags das Wasser mit Sauerstoff reichlich versorgen und zum Auftreten ausgiebiger Oxydationen damit Veranlassung geben.

Man kann nun die ins Wasser normalerweise gelangenden Schmutz- und Abfallstoffe in vier Gruppen einteilen, entsprechend ihrer Beeinflussung der Organismenwelt des Wassers.

Die erste Gruppe umfaßt alle jene gelösten oder in feinster Form im Wasser verteilten Substanzen, die für die Organismenernährung in Frage kommen. Hier sind vor allem die Schlachthausabfälle usw. zu nennen, also Eiweißkörper und deren komplexe Spaltungsprodukte, Fette, Kohlehydrate, organische Säuren und diejenigen Mineralstoffe, die wir für das Leben der Pilze als unbedingt notwendig erkannt haben.

In der zweiten Gruppe sind diejenigen Abfallstoffe zu vereinigen, deren Lösungen für die Organismen als indifferent anzusehen sind. Dies gilt vornehmlich für Laugen aus Salzbergwerken, in denen bekanntlich die Chloride des Natriums, Kalziums und Magnesiums vorwiegend auftreten. Eine Schädigung der pilzlichen Organismen wird durch sie nicht hervorgerufen, wenn sie auch den Fischbestand mitunter zu gefährden vermögen.

Die dritte Gruppe vereint Abfallstoffe, die für die Organismen Gifte sind. Meist handelt es sich dabei um starke Alkalien oder Säuren. Ätzkalk, Schwefelsäure, Sulfitlauge usw. kommen hier in erster Linie in Betracht.

Die vierte Gruppe umfaßt die als unlösliche Sinkstoffe in das Wasser gelangenden Abfallprodukte. Hier sind vor allem zu nennen die unlöslichen Bestandteile von Dünger und Fäkalien, Abfälle der Zellulosefabriken, Holzfasern. Sie alle verfallen aber auch mehr oder minder schnell der Zersetzung. Nur andere unlösliche Stoffe, wie Ruß, Kohleteilchen usw., bleiben erhalten.

Obwohl bei der Selbstreinigung der freien Gewässer gewiß auch eine Reihe rein chemischer, nicht auf Organismen in letzter Linie zurückgehender Vorgänge beteiligt ist, so kommt doch den verschiedenen Organismen, insonderheit den pilzlichen, die Hauptanteilnahme zu. Aus diesem Grunde kann man auch mit gutem Rechte von einem biologischen Selbstreinigungsprozeß im Wasser oder kurzweg von einer biologischen Selbstreinigung sprechen, die hauptsächlich auf die Tätigkeit niederster und niederer Pflanzen zurückzuführen ist. Die daran beteiligte Flora und auch Mikroorganismenfauna wird natürlich unter den verschiedenen in der Natur herrschenden Bedingungen sich ändern.

Andere Organismen werden sich in reißenden Bächen und wieder andere in ruhigen Teichen und Tümpeln einstellen. Hier wollen wir uns

im Rahmen unserer Darstellung in erster Linie mit den dabei vorherrschenden pilzlichen Organismen etwas näher beschäftigen.

Aus der reichen Kleinpilzflora der Vorfluter, zu welchen ja fast alle offenen Gerinne und stehenden Gewässer werden, fallen entsprechend der Art der Verunreinigung besondere Vertreter auf und werden sozusagen zu Leitpilzen. Im folgenden seien solche Hauptvertreter ein wenig näher charakterisiert.

Die Saprolegniaceë Leptomitus bildet Myzelfäden von 16—20 μ Dicke, die wohl Einschnürungen aufweisen, aber keine Querwände bilden. In jedem Abschnitt zwischen zwei Einschnürungen befindet sich ein kugelförmiger Einschlußkörper, der aus einer zelluloseartigen Substanz, dem Cellulin, besteht. Wird in einem Faden eine Verletzung gesetzt, so schließt diese Kugel ventilartig an der Einschnürung diesen Teil des Myzelfadens ab. Leptomitus sitzt an Unterlagen mit seinem verfilzten Faden fest. Im strömenden Flußbett werden davon Teile abgerissen, die sich wieder an Unterlagen festsetzen und so die Art verbreiten. Figur 165 zeigt Endglieder von Leptomitus lacteus mit den eigentümlichen Verschlußkugeln. Man beobachtet auch häufig eine Fortpflanzung durch Schwärmsporen. Dieselben werden zahlreich in einem zum Sporangium gewordenen Abschnitt gebildet, verlassen dasselbe und schwärmen eine kurze Zeit. Sie setzen sich dann fest und wachsen zu verzweigten Fäden aus. Die Ansprüche des Leptomitus hinsichtlich der Stickstoff- und Kohlenstoffquellen hängen von der Art der ersteren ab. Die an praktischen Reinkulturen dieses Pilzes gemachten Beobachtungen haben ergeben, daß derselbe selbst in sehr verdünnten Lösungen von Ammoniumchlorid, Ammoniumkarbonat, Ammonsulfat und Ammonphosphat zu gedeihen vermag, wenn ihm reichliche Mengen von Zucker gleichzeitig zur Verfügung stehen. Die Reinkulturen wurden in Nährböden gewonnen und gezüchtet, zu denen eine Stammlösung verwendet worden ist, deren Zusammensetzung hinsichtlich der mineralischen Bestandteile der Durchschnittszusammensetzung von Vorflutern entspricht.

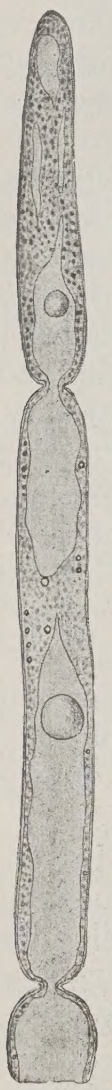


Fig. 165.

Trommsdorff benützte folgende Stammlösung [1]):

$MgSO_4$	0,05 g
$CaSO_4$	0,05 g
K_2HPO_4	0,10 g
NaCl	0,10 g
$FeCl_3$	0,001 g
H_2O	1000,00 g.

Die früher genannten Ammonsalze wurden in einer Menge von 0,01% und Rohrzucker in einer solchen von 1% zugesetzt. In solchen Kulturen entsteht aber infolge des Wachstums des Leptomitus alsbald Säure, welche den Pilz im weiteren Wachstum hindert. Die Neutralisation der entstehenden Säure durch Kalziumkarbonat fördert die Entwicklung dieses Pilzes außerordentlich. Salpeter in Verbindung mit

1) Entnommen Zentralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. 48, S. 265.

Zucker gibt ebenfalls einen für Leptomitus guten Nährboden. Leptomitus verarbeitet alle hochmolekulären Eiweißverbindungen ausgezeichnet. In diesem Falle spielt der Zucker als Kohlenstoffquelle keine nennenswerte Rolle, da der Pilz auch seinen Kohlenstoffbedarf aus dem Eiweißkohlenstoff deckt. Eine Bindung elementaren Stickstoffes durch Leptomitus konnte in keinem Falle nachgewiesen werden. Leptomitus lacteus ist ein obligater Aërobier und findet sich deshalb hauptsächlich in mäßig rasch fließenden Wasserläufen an nicht tief eintauchenden Unterlagen, wo also die Durchlüftung des Wassers genügend erfolgt. Er ist sozusagen der Leitpilz jener Gewässer, die besonders mit hochmolekulären Eiweißabkömmlingen verunreinigt sind.

Ein zweiter typischer Abwasserpilz ist der Sphaerotilus natans. Diese bescheidete Fadenbakterienart bildet unverzweigte und nur wenige Mikren breite Fäden, welche aus aneinandergereihten Zellen bestehen. Eingetauchte Blätter u. dgl. bilden die Unterlage, wo sich große fellartige Überzüge von grauweißer bis rötlicher Farbe entwickeln. Die neueren Untersuchungen über die Ernährung des Sphaerotilus haben ergeben, daß er keineswegs auf hochmolekuläre Eiweißsubstanzen angewiesen ist, sondern mit einfachen Stickstoffverbindungen ausreicht, sofern entsprechende Kohlenstoffquellen vorhanden sind. So entwickelt er sich mit Ammonsalzen und Salpeter als Stickstoffquelle beim Vorhandensein von Zucker als Kohlenstoffquelle gut, sofern die Reaktion der Nährlösung neutral ist. Damit erklärt sich auch das massenhafte Auftreten des Sphaerotilus in Abwässern und Vorflutern von Sulfit-Zellulosefabriken, bei denen eine weitgehende Neutralisation der Ablaugen vor dem Übergang in das Abwässer vorgenommen wird. Hier dienen die an abgebauten Kohlehydraten reichen und auch genügend Stickstoffverbindungen enthaltenden Abwasser der Bakterie als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. Ohne besondere Kohlenstoffquelle vermag Sphaerotilus nur dort zu gedeihen, wo genügend lösliche Eiweißkörper oder deren erste Spaltungsprodukte, wie Peptone und Albumosen vorhanden sind. Unsere Fadenbakterie ist besonders in der kälteren Jahreszeit sehr schnellwüchsig und vermehrt sich unter günstigen Bedingungen außerordentlich stark. Die Endzellen wandeln sich zu Schwärmern um, die eine subpolare Geißel tragen, sich alsbald festsetzen und den Ausgang zu einer neuen Generation bilden. Sphaerotilus ist durchaus sauerstoffliebend und findet sich daher in erster Linie in nicht zu rasch fließenden Gewässern.

Neben dem Sphaerotilus natans hat man noch einen Sphaerotilus roseus beschrieben, von dem mehrere Abarten mit dünneren oder dickeren Fäden bekannt geworden sind.

Sphaerotilus kann als Leitpilz der am stärksten organisch verunreinigten Abwässer und Vorfluter angesehen werden. Er zählt somit in erster Linie zu den Polysaprobien.

Die Cladothrix dichotoma ist in vielen Belangen dem Sphaerotilus ähnlich, so daß man sogar geneigt war, in ersterer nur eine andere Entwicklungsform des Sphaerotilus zu erblicken. Neuere Beobachtungen rechtfertigen aber die selbständige Stellung der Cladothrix. Sie ist eine bescheidete Fadenbakterie, die sich dichotomisch verzweigt und Schwärmer erzeugt, die ein subpolares Geißelbüschel tragen. Be-

züglich ihres Entwicklungskreises sei auf Seite 58 verwiesen. Cladothrix findet sich vornehmlich in wenig verunreinigtem Wasser und ist dementsprechend in die Mitte zwischen Mesosaprobien und Oligosaprobien zu stellen.

In besonders faulfähigem Wasser kennt man schon lange in Schleimmassen eingehüllte Zellhaufen, die als Zoogloea ramigera bezeichnet sind. Diese Zusammenlagerungen zeigen eine mehr lockere oder auch sehr kompakte Beschaffenheit und bieten ein geweihähnliches Bild unter dem Mikroskope. Die einzelnen Zellen erweisen sich als in der Ebene gekrümmte Stäbchenbakterien von 2—3 μ Länge und 1—1,5 μ Breite. Sie liegen in einer Gallerte, die dextranartiger Natur ist. In der Reinkultur kann man entsprechend den Kulturbedingungen kurze kokkenartige Formen beobachten. Die Stäbchen sind beweglich und tragen an einem Pole eine einzige Geißel. Sie sind nach Gram nicht färbbar. Obgleich sich die Zoogloea ramigera in Nährsubstraten mit reichlichen komplexen organischen Stickstoffverbindungen am besten entwickelt, vermögen die sie zusammensetzenden Bakterien auch mit einfachen Stickstoffquellen, wie Ammonsalzen, auszukommen. Sie sind aërob und haben in Reinkultur ein Temperaturoptimum um 25° C. Nach den neueren Untersuchungen kann in der Zoogloea ramigera wohl keine Standortsform des Sphaerotilus erblickt werden.

In verschiedenen Abwässern findet man mitunter auch Mucorineen, wobei es sich meist um Mucor racemosus, und um Vertreter der Zygorhynchusgruppe handeln dürfte.

Tiegs beobachtete in dem salpetersauren Abwasser einer Munitionsfabrik das Penicillium fluitans nov. spec., das in Reinkulturen in den Nährlösungen bis zu 1,5% Salpetersäure ertragen soll.

Nicht unerwähnt darf das Auftreten von Fusarium in Abwasser bleiben.

Überall dort, wo Zersetzungen von Gips oder Faulsubstanzen freien Schwefelwasserstoff entstehen lassen, siedeln sich Schwefelbakterien, insonderheit Beggiatoën an.

Die Selbstreinigung der Gewässer gipfelt im allgemeinen in einer möglichst weitgehenden Mineralisierung der organischen Verunreinigung. Dazu tragen außer den genannten besonders auffallenden Vegetationen noch zahlreiche Vertreter grüner Pflanzen, soweit sie entsprechende Existenzbedingungen haben, und zahlreiche Schizomyzeten bei. Im wesentlichen bestehen diese Abbauprozesse komplexer organischer Verbindungen entweder in einem direkten Zerfall derselben in einfachste anorganische Körper oder in einer Umwandlung derselben in die Leibessubstanz der früher beschriebenen massenhaft auftretenden Pilze. Letztere sterben ab und tragen zur Schlammbildung bei. Im Schlamm findet dann durch bakterielle Verwesung und Fäulnis der endgültige Abbau der toten Pilzsubstanz statt. In beiden Fällen entstehen als Endprodukte noch Kohlendioxyd, Ammoniak und Schwefelwasserstoff, die aus dem Wasser zum größten Teil entweichen. Auch die Ernährung der Protozoën durch Fraß der Bakterien und der ungelösten organischen Verunreinigungen und endlich die Nahrungsaufnahme der höheren Wassertiere ist als Reinigungsfaktor zu berücksichtigen. Sobald die Verwandlung der organischen Substanzen in einfache anorganische Verbindungen weiter vorgeschritten ist, mit anderen Worten die Reinigung

einen gewissen Grad erreicht hat und eine genügende Menge von Nährsalzen für grüne Wasserpflanzen gebildet worden ist, siedeln sich zahlreiche Algen und höhere Pflanzen an. Damit wächst die Versorgung mit Sauerstoff tagsüber, wodurch für die Reinigungsorganismen als Aërobier die Wachstumsbedingungen gehoben werden. Anderseits darf aber nicht außer acht gelassen werden, daß im Dunkeln, also des Nachts, die grüne Flora im Wasser eine vermehrte Kohlensäureabscheidung hervorruft, die besonders bei stehenden Gewässern für den Fischbestand eine nicht zu unterschätzende Gefahr bedeutet.

Von Bedeutung ist das Verhalten der pathogenen Organismen bei der Selbstreinigung von Gewässern. Auch die Zahl der pathogenen Keime wird dabei jedenfalls mehr oder minder stark heruntergehen. Die Größe der Reinigung wird natürlich mit abnehmender Verunreinigung des betreffenden Wassers zunehmen. Außer der Menge der Verunreinigung wird auch die Qualität derselben bis zu einem gewissen Grade maßgebend sein. Vorwiegend wird eine Reduktion der pathogenen Mikroorganismen auf eine mangelhafte Ernährung und auf die Freßtätigkeit von Protozoën zurückzuführen sein. Dagegen werden dabei physikalische Einflüsse, wie diejenigen des Lichtes, eine nur untergeordnete Rolle spielen. Da nur die ultravioletten Strahlen dafür in Frage kommen, kann sich die bakterizide Wirkung derselben nur in den oberflächlichen Wasserschichten äußern. Ein Eindringen in die Tiefe verhindert die durch den Schmutzgehalt hervorgerufene, wenn auch nur leichte Trübung. Für die Verminderung der pathogenen Bakterien in offenen fließenden und stehenden Gewässern kommen eventuell noch die Temperatnrverhältnisse in Frage. Im allgemeinen ist wenigstens in unseren Breiten die Temperatur des Flußwassers meist erheblich unter 30° C. Das Temperaturoptimum der pathogenen Mikroben liegt um 37° C. Es wird also die herrschende, dem Temperaturminimum sich nähernde Temperatur des Wassers jedenfalls jedwede Vermehrung dieser Bakterien verhindern. Ein Rückgang der Keimzahl infolge etwa sterilisierender Wirkung durch die relativ niedere Temperatur ist aber nicht zu erwarten. Es kann höchstens der Fall eintreten, daß die gleichzeitig vorhandenen schlechten Ernährungsverhältnisse im Verein mit der niedrigen Temperatur zu einer langsamen Abtötung der pathogenen Bakterien führen.

Wenn in den freien Flußläufen, Seen usw. eine weitgehende Selbstreinigung erfolgen soll, so dürfen die Verunreinigungen nicht unverhältnismäßig groß sein. Die städtischen Abwässer und jene der verschiedenen Industrien werden deshalb einer Reinigung unterzogen, bevor sie den Vorflutern zugeführt werden. Von dieser Vorreinigung kann nur dann abgesehen werden, wenn die Menge der Abwässer im Verhältnis zur Wassermenge der Vorfluter sehr klein und die Strömungsgeschwindigkeit der letzteren genügend groß ist. Dann kann eine rasche und entsprechend starke Verdünnung der Abwässer eintreten. Die Zusammensetzung der Abwässer der verschiedenen Industrien und der Städte ist sehr verschieden.

Die städtischen Abwässer enthalten reichlich Fäkalien, Küchenabfälle, Schlachthausabgänge, Spülwasser usw.

Wie aus den Analysen von städtischen Abwässern hervorgeht, enthalten dieselben Eiweißstoffe, Kohlehydrate, Fette und

Salze, alles für Bakterien und Pilze brauchbare Nährstoffe. Außerdem ist die Menge der darin nicht gelösten Bestandteile ziemlich erheblich. Die folgende Zusammenstellung enthält die Analysenergebnisse in Milligrammen pro Liter eines Abwassers von mittlerer Zusammensetzung nach Kolkwitz. Daneben sind noch die Analysenbefunde eines aus einem künstlichen Faulraum und eines bereits biologisch gereinigten Drainwassers zum Vergleich angeschrieben.

Verbindungen	Städtisches Rohwasser	Abfluß aus einem Faulraum	Drainwasser
Suspendierte Stoffe	500—800	ca. 200	fast 0
Fette und Seifen.	ca. 150	vorhanden	0
Abdampfrückstand	ca. 1000	ca. 1000	ca. 1000
Permanganatverbrauch . .	ca. 500	ca. 400	130—200
Organischer Stickstoff . .	ca. 20	ca. 10—15	ca. 1—9
Ammoniakstickstoff. . . .	ca. 70 und mehr	ca. 100	0—20
Salpeter- u. salpetrige Säure	0—3	0	50—150
Schwefelwasserstoff	0 oder Spuren	ca. 15 und mehr	0
Gelöster Sauerstoff	meist 0 cc	meist 0 cc	1—3 ccm
Keime pro ccm	3—40 Millionen	2—20 Millionen	30—100 Tausend

Enorm groß ist der Bakteriengehalt des städtischen Rohwassers. Die Mehrzahl der Spaltpilze desselben sind Fäzesbakterien, Bacillus coli und andere aërobe und anaërobe Fäulnisbakterien und Darmbewohner. Außerdem kommen vornehmlich Buttersäurebakterien, der weitverbreitete Bacillus subtilis, dann Vertreter der Gruppe Proteus im Wasser vor. Daneben finden sich noch zahlreiche Kugelbakterien und häufig auch Schraubenbakterien. Vielfach wurden auch Schwefelbakterien gefunden. Außerdem sind Schimmelpilze zahlreich vertreten, die sich meist mit ihrer typischen Vegetation an der Grenze von Flüssigkeit und Kanalwand oder Wand überhaupt ansiedeln. Auch Protozoenarten fehlen durchaus nicht.

So verunreinigte Wässer führt man nun der raschen biologischen Reinigung zu, indem man sie entweder über Rieselfelder leitet oder in biologische Füllkörper oder Tropfkörper oder endlich in Faulkammern eintreten läßt.

Die **Rieselfelder** sind große, aus lockerem Boden bestehende Flächen Freilandes, die meist mit Gras bewachsen sind. Das in den Boden eindringende Wasser sammelt sich in den abführenden Drainröhren. In Figur 166 ist ein schematischer Querschnitt durch ein Rieselfeld mit vorgeschaltetem Absitzbecken nach Kolkwitz wiedergegeben. Letzteres ist nur einige Meter tief und hat an der Wassereinlaufstelle (links in der Zeichnung) ein Eintauchbrett, das ein Aufwirbeln des Schlammes durch das eintretende Wasser verhindert. Der Boden des Beckens ist in der angegebenen Weise geneigt, um eine leichte Reinigung zuzulassen. Die mit einströmenden Sinkstoffe setzen sich sehr bald zu Boden, während sich hinter dem Eintauchbrett eine Decke von leichten Stoffen, wie Fett und durch Gärgase aufgetriebene Schlammteile, ausbildet. Vor dem Auslauf befindet sich ein zweites Eintauchbrett, das den Austritt dieser Deckenstoffe hintanhält. Von da gelangt erst das Abwasser, frei von gröberen Sinkstoffen, auf das eigentliche Rieselfeld, auf dem es sich verteilt, langsam zwischen

den Graswurzeln und den feinen Bodenöffnungen durchsickert, um schließlich in die unten befindlichen Drainröhren an ihren Zusammenstößen als gereinigtes Drainwasser einzutreten. Den Effekt der Reinigung kann man aus der früheren Zusammenstellung ohne weiteres entnehmen.

Die Graswurzeln nehmen die ihnen zugänglichen, gelösten mineralischen Verbindungen als Nahrung auf. Das Rieselland besorgt eine Filtration, bei der infolge Absorption an der Oberfläche der Bodenteilchen die Reinigung erfolgt. Erst an den absorbierten Schmutzstoffen setzt die Bakterientätigkeit zersetzend und abbauend ein, wodurch die Erde wieder aufnahmefähig wird. So arbeiten die Mikroorganismen ununterbrochen weiter, solange eine genügende Durchlüftung herrscht. Oft wird dieselbe durch mitausströmendes Fett verringert, indem es die feinen Poren einfach verlegt. Dann stellen sich sofort Störungen im Rieselfeldbetrieb ein.

Der **biologische Füllkörper** ist ein aus Koks oder Schlacke hergestelltes, verkleinertes Rieselfeld. Meist wird in einem Becken eine ein Meter hohe Schicht von etwa erbsengroßen Koksstückchen oder Schlackenteilen eingebracht. Der etwas leicht geneigte Boden des Füllkörpers enthält Drainröhren, durch die das gereinigte Wasser abläuft. Hier bringt man gewöhnlich einen Sandfang an, um schwere Sinkstoffe zurückzuhalten. In Figur 167 ist im Querschnitt ein biologischer Füllkörper mit vorgelegtem Sandfilter nach Kolkwitz abgebildet. Von links her strömt das Abwasser durch eine tief in den vorgeschalteten Sandfänger reichende Röhre ein und läuft oben in den Füllkörper aus, der rechts wiedergegeben ist. Das auf letzteren laufende Wasser soll möglichst durch ein Rohrsystem über die Oberfläche verteilt werden. Man läßt das Wasser im Füllkörper bis an die Oberfläche reichen und so ca. zwei Stunden stehen. Dann erst wird es durch die unten sichtbaren Drainröhren langsam

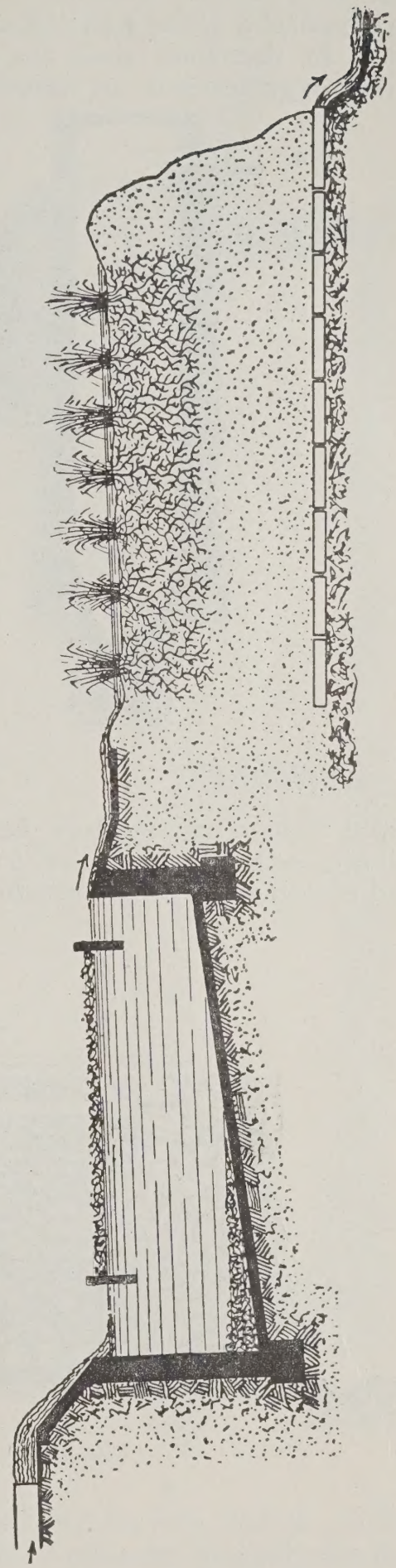


Fig. 166.

abgeleitet. Diese Füllkörper arbeiten aber erst dann gut, wenn sich die Oberfläche jedes Koksstückchens mit einer Schaumschicht bedeckt hat. In derselben sind die für die Reinigung aufkommenden Mikroorganismen in großer Zahl angesiedelt. Auch sie reinigen

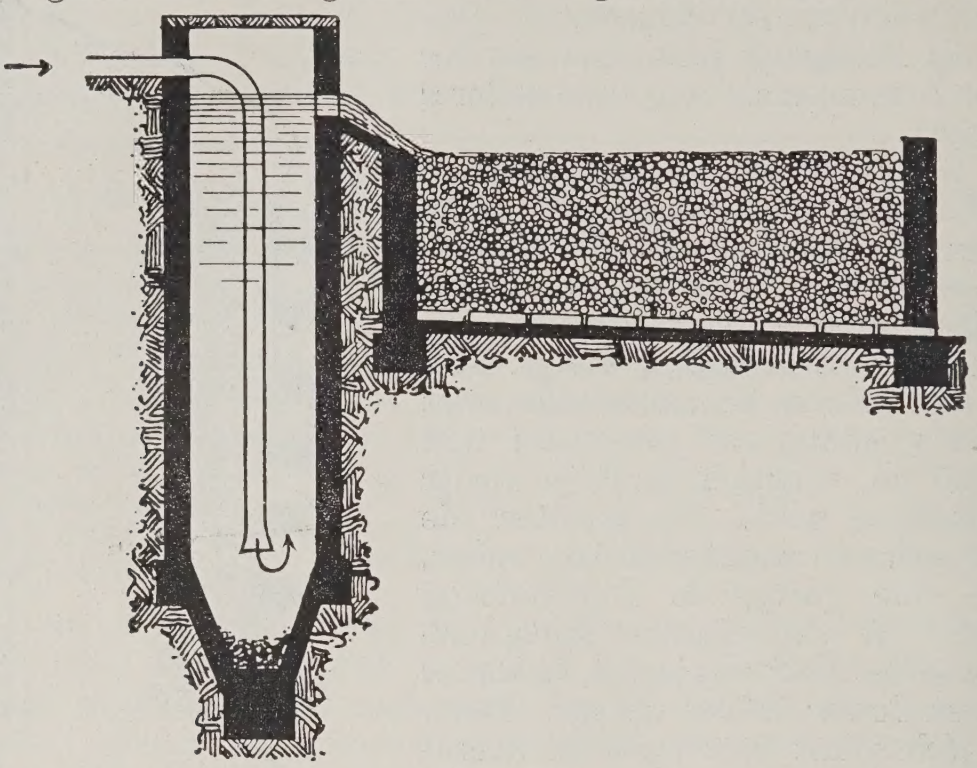


Fig. 167.

gewiß nicht unmittelbar das Wasser, da dasselbe schon nach 20—30 Minuten sehr rein geworden ist, sondern sie entfernen die adsorbierten und absorbierten Schmutzstoffe durch ihre Gärungen und Zersetzungen.

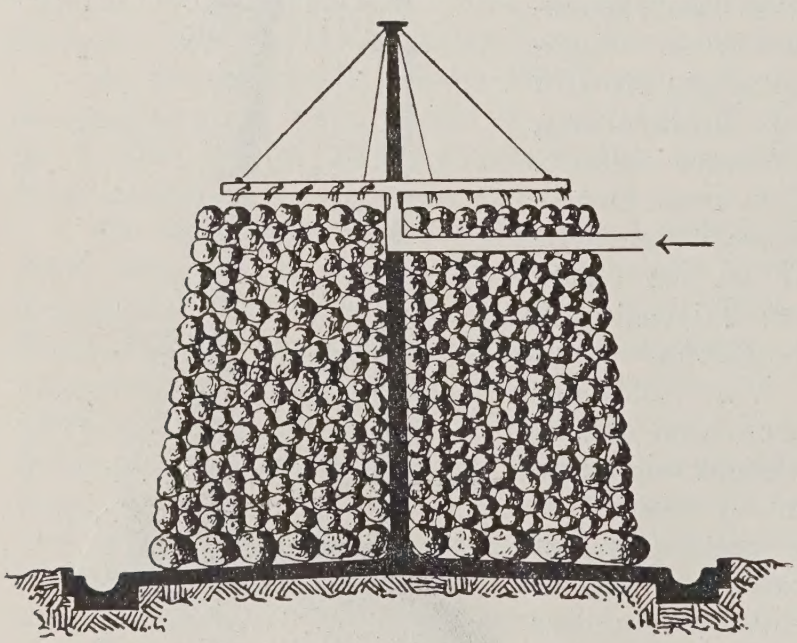


Fig. 168.

Für die rege Organismenbetätigung spricht auch eine ausgiebige Kohlensäureabgabe aus den Füllkörpern und ein großer Sauerstoffverbrauch. Auch das Ansteigen der Temperatur in solchen arbeitenden Füllkörpern deutet auf intensive Oxydationsvorgänge in derselben hin.

In den **biologischen Tropfkörpern** werden sich die Abbau- und Reinigungsprozesse fast noch schneller vollziehen, da hier eine reichere Durchlüftung erfolgt. Ein solcher Tropfkörper ist aus etwa zwei Meter hoch zusammengeschichteten, etwa faustgroßen Koksstücken oder auch noch größeren zusammengestellt.

Auf diesen Kokshügel wird das Wasser von oben her aufgetropft, wozu besondere Verteilungsvorrichtungen dienen. Unsere Figur 168 zeigt einen Tropfkörper im Schnitt nach Kolkwitz. In der Pfeilrichtung strömt das Schmutzwasser in den drehbar eingerichteten Besprenger mit den seitlich gerichteten Ausflußöffnungen. Der Rückstoß der austretenden Wasserstrahlen setzt die Vorrichtung in drehende Bewegung, wodurch ein gleichmäßiges Bespritzen der oberen Fläche des Tropfkörpers herbeigeführt wird. Die Wirkungsweise der Tropfkörper ist im wesentlichen die gleiche wie diejenige der Füllkörper. Ein Unterschied ergibt sich höchstens in der Art der Besiedlung durch Mikroorganismen, indem wahrscheinlich in dem oberen, zuerst bespülten Teil sowohl die Keimzahl als auch der Artenreichtum größer sein wird als in den unteren Partien.

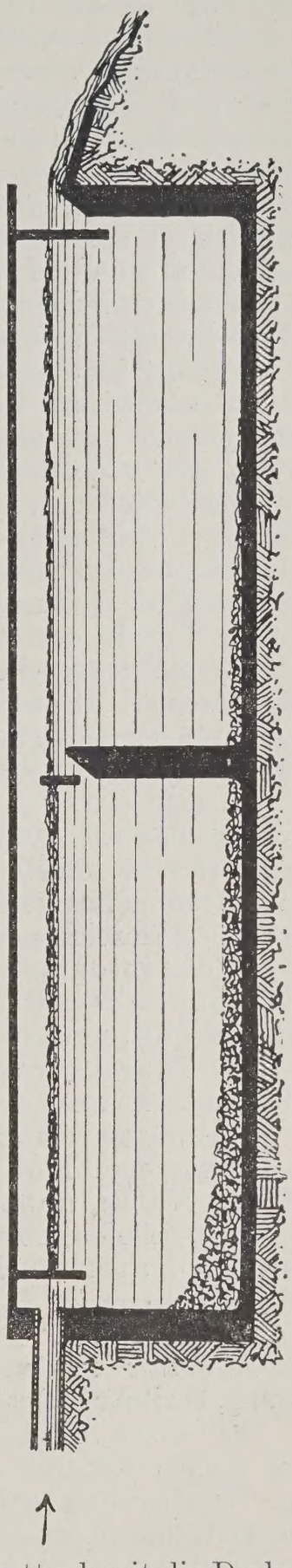


Fig. 169.

Zur Abwasserreinigung benutzt man, wenn auch selten, **Gradierwerke.** Dabei rinnt in schwachem Strome das Schmutzwasser über mehr oder minder hohe Reisigwände, die eine den Tropfkörpern vergleichbare Wirkung haben. Wenn sie zweckmäßig angelegt sind, ergeben auch sie eine hinlänglich genügende Reinigung von Abwasser. Hier sind den bei der Selbstreinigung der Flüsse herrschenden Verhältnissen sehr ähnliche geschaffen, weshalb sich entsprechend dem Gehalte an ernährenden Sticktsoffverbindungen auch die früher genannten Pilze, Mucorarten und Sphaerotilus natans ansiedeln.

Das **Faulverfahren** zur Reinigung der Abwässer ist dadurch charakterisiert, daß die Spaltung der Eiweißsubstanzen und Kohlehydrate in Faulbecken vorgenommen wird, in die das Rohabwasser eingelassen wird. Gewöhnlich arbeitet man mit wenigstens zwei hintereinander geschlossenen Faulbecken, von denen das erste die Hauptmenge der Sinkstoffe aufnimmt und die größte Deckenbildung von Fett und aufgetriebenen leichten Verunreinigungen unlöslicher Natur aufweist. In unserer Figur 169 sehen wir im Schnitt zwei hintereinander geschlossene Faulbecken nach Kolkwitz abgebildet. In der Pfeilrichtung fließt das Rohwasser ein und trifft dabei auf das erste Eintauchbrett, um jedes Aufwirbeln des Schlammes zu vermeiden. Den Abschluß des ersten Beckens schützt ein zweites Eintauchbrett, damit die Deckenbildungen beim Überströmen des Wassers nicht mitgerissen werden. Hier

sammeln sich die Sinkstoffe in größter Menge als Schlamm an, der einer tiefen Zersetzung unterliegt und dabei vergast und verflüssigt werden soll. Die Decke an der Oberfläche besteht aus den Fettsubstanzen, Papier und dergleichen leichten Abfallstoffen, zwischen denen sich zahlreiche Pilzvegetationen ansiedeln, die mit ihrem Hyphengeflecht alles durchziehen und dem Ganzen ein festeres Gefüge geben. Diese Schwimmdecken erreichen oft eine sehr große Dicke, die mehrere Dezimeter betragen kann. In das zweite Faulbecken kommt das von seinen ungelösten Bestandteilen zum größten Teil befreite und nunmehr schon etwas reiner gewordene Wasser. Hier wird nur eine unbedeutende Schwimmdecke ausgebildet und der entstehende Bodensatz ist auch ziemlich gering gegenüber den Schlammassen im ersten Becken. Das Wasser bleibt nun 12—24 Stunden in den Faulbecken. Es genügt aber, wenn es langsam durchströmt, vorausgesetzt, daß es nicht überreich mit fäulnisfähigen Stoffen beladen ist. Die Ergebnisse mit diesen Faulkammern sind aber nicht gerade glänzend, denn durch die herrschenden Fäulnisprozesse können nur verhältnismäßig geringe Mengen, die sich in großer Verdünnung befinden, verarbeitet werden. Das gleiche gilt für den angesammelten Schlamm, der nur dann tatsächlich durch die mikrobielle Tätigkeit gänzlich zersetzt werden könnte, wenn sehr verdünnte Abwässer zur Reinigung kommen. Immerhin besitzt das Faulverfahren bei sehr großem Gehalt des Abwassers an organischen Substanzen als Vorreinigungseinrichtung eine Bedeutung. Die daraus abfließenden, noch sehr unreinen Abwässer können dann durch einige der vorgenannten Einrichtungen biologisch weiter gereinigt werden, wozu sich Rieselfelderanlagen vielleicht noch am besten eignen.

Da eine stärkere Durchlüftung in den Faulkammern nicht durchführbar ist, zumal dieselben meist auch noch gedeckt sind, so siedeln sich in denselben vorwiegend anaërobe oder mindestens fakultativ anaërobe Bakterienarten an, abgesehen von der Pilzflora der Decke, die immer hinreichende Mengen von Sauerstoff erhält.

Alle biologischen Reinigungsverfahren von Abwässern vermögen aber die in letzteren befindlichen pathogenen Mikroorganismen nicht mit Sicherheit auszuschalten.

Die Fabriksabwässer kann man in solche gruppieren, die vornehmlich Eiweißstoffe und deren Abkömmlinge enthalten (z. B. Abwässer der Schlachthäuser, Gerbereien), dann solche, die vorwiegend Kohlehydrate und Sinkstoffe kohlehydratartiger Natur neben reichlichen Salzen führen (z. B. Abwässer der Sulfit-Zellulosefabriken) und endlich solche, die neben sehr viel Kohlehydraten auch noch reichlich komplexe Eiweißbruchstücke besitzen (z. B. Abwässer von Brauereien, Stärkefabriken, Zuckerfabriken). Diese aus den technischen Großbetrieben stammenden Abwässer werden entsprechend ihrer Herkunft, also Zusammensetzung, bei ihrer biologischen Reinigung verschiedene Pilzfloren aufweisen.

Die erste Kategorie von Fabriksabwässern wird infolge ihres großen Gehaltes an faulfähigen Substanzen eine ungeheure Menge von Fäulnisbakterien zur Entwicklung bringen. Diese werden eine weitgehende Mineralisierung der organischen Stoffe einleiten. Auch Leptomitus, Zoogloea ramigera, Mucorarten und schließlich im Schlamm Schwefelbakterien werden nicht fehlen. Werden

solche Abwässer ohne Vorreinigung einem wasserarmen Vorfluter in reichlicherer Menge zugeführt, so wird letzterer auf weite Strecken in der ausgiebigsten Weise verschlammt und verpilzt. Die normale Wasserfauna und -flora ist bedeutend reduziert, mitunter vollständig verdrängt.

Die zweite Gruppe von Fabriksabwässern führt verhältnismäßig wenig faulfähige Stoffe, dafür aber reichlich Kohlenhydrate. Den Typus für diese Gruppe geben die Abwässer der Sulfit-Zellulosefabriken, die ungefähr ebensoviel Kohlehydrate in das Abwasser schicken als sie an Zellulose erzeugen. Die mitabfallenden stickstoffhaltigen Verbindungen sind zum größten Teil schon tiefer abgebaut. Hier finden wir neben reichlichen Wasserbakterien in erster Linie Sphaerotilus in großen Mengen, der zu einer starken Anhäufung von Schlamm führt, in dem die Massen von Pilzkörpern der Fäulnis anheimfallen. Der dabei auftretende Schwefelwasserstoff führt auch zur Ansiedlung von Schwefelbakterien. Die Sphaerotiluswucherungen werden sich besonders dort zeigen, wo eine Vorneutralisation der Sulfitablaugen vorgenommen wird und dieselben nur sehr wenig sauer in den Vorfluter gelangen.

Die Pilzflora der dritten Gruppe von Fabriksabwässern ist durch jene der Abwässer der Rübenzuckerfabriken sozusagen gegeben. Der Reichtum an Kali und Phosphaten fördert das Pilzwachstum hervorragend. Es tritt in solchen Abwässern durch Zersetzung der Kohlehydrate alsbald eine saure Reaktion ein, wenn nicht durch den Kalkgehalt des Vorfluters eine rasche Neutralisation eintritt. Die Bakterienflora dieser Gruppe von Abwässern enthält meist Buttersäurebildner und Milchsäurebakterien neben einem Heer von anderen Mikroben. Außer Hefen und Schimmelpilzen stellt sich immer reichlich Leptomitus ein.

Den theoretischen Erwägungen entsprechend müßten sich die Koksfüllkörper oder Tropfkörper zur Reinigung dieser Fabriksabwässer ebenfalls eignen. In dieser Hinsicht unternommene Versuche haben die Richtigkeit dieser Annahme bestätigt. Man wird aber im allgemeinen mit den weniger kostspieligen Rieselfeldern auch in diesen Fällen meist das Auslangen finden, zumal die Verhältnisse insofern günstig liegen, als Fettstoffe nur in geringer Menge in die Industrieabwässer gelangen und daher eine Behinderung der Filtration nicht zu befürchten ist.

Sachregister.

Abfallstoffe im Wasser 523.
Abfangmethode 346
Abschwitzen 421
Absitzbecken für Rieselfelder 528
Abwasser, städtisches, Zusammensetzung 527
Acetaldehyd, Bildung durch Hefen 221
Acetamid, Spaltung 289
Acetobacter melanogenum 346
Acetobacter plicatum Fuhrmann 342, 357
Achromatiaceae 174
Achromatium 147
— oxaliferum 44
Actinomyces, thermophiler 393
Actinomycetaceae 177
Adenin 81, 284
— Fäulnis 284
— im Hefeplasma 207
Adenosin 284
Adenosinamidase 284
Agglutinin für Knöllchenbakterien 304
— im Kolostrum 317
Airan 449
— von Kumiss 452
Airosoma 41
Aktinomyzeten in Milch 320
Aktivatoren 85
Alanin 279
Albumin im Hefepreßsaft 207
Alescheria Gayoni 269
Algen, N-Bindung 312
Alkaleszenzmaximum für Bakterien 146
Alkaleszenzoptimum für Bakterien 146
Alkaloide 87
Alkoholase 11, 89, 100, 345
— bei der Hefeatmung 219
— in der Hefe 211
Alkoholbildung durch Torula 237
Alkoholische Hefegärung 221
Allantiasis 516
Alnus, Wurzelknöllchen 307
Alpinia Galanga bei der Ragibereitung 489
Altern des Weines 211
Aluminium in der Hefenasche 205
Ameisensäure als C-Quelle für Hefe 217
— Wirkung auf die alkoholische Gärung 224
— — — Essigbakterien 224
— — — Milchsäurebakterien 224
Ameisensäuregärung 341
Amidasen in der Hefe 208
Amidgärung 412
Aminazidase 89, 92
Aminoisobutylessigsäure-α, Fettsäurebildung 286
Aminosäuren, Fäulnisabbau 280
Amoebobacter Winogradsky 175
Amoebobacteriaceae 157
Ammoniakalische Gärung 158
Ammoniakoxydation 298
Ammonisation 290
Ammoniumstickstoff, Gehalt der Hefe 207
Amphitrische Begeißelung 34
Amygdalase 94
— in der Hefe 209
Amygdalin 11, 94
Amylalkohol, Bildung durch Hefe 220
Amylase 96
— in der Brennerei 473
— — — Hefe 209
— von Aspergilus oryzae 269
Amylin 43
Amylobacter bei der Röste 385
— butylicum 374
Amylobactergärung 309
Amylomyces Rouxii 488
Amyloverfahren 277
Anabaena, N-Bindung 312
Anaërobiose 10
Anhäufungsform 335
Anhydridbildungen 156
Anguillula aceti 371
Anpassungsvermögen der Hefen 228
Antheridium 265
Anthraxbakterium 60
Anthyllis, Knöllchenbakterien 304
Antibiose 148
Antienzyme 85
Antifermente 85
Antiformin 501
Antinonin 502
Antiseptikum 496
Antisepsis 496
Antitoxine 108
Apfelweinessig 369
Äpfel, Einsäuerung 444
Äpfelsäure als C-Quelle für Hefen 217
— C-Quelle für Denitrifikationsmikroben 296
— Nährstoff für Mykodermen 235

Arabinose 104
Arginase 89, 92
— in der Hefe 209
Arginin 92, 279
— Fäulnisabbau 281
Arrak aus Melasse 489
— batavischer, Zusammensetzung 490
— javanischer, 488
Arsen-Nachweis durch Penicillium brevicaule 372
Arthrosporen 64
Asbest für Wasserfilter 521
Aschengehalt der Bakterien 76
— — Hefezelle 204
— — von Oberhefe 204
— — — Unterhefe 204
Äschern 421
Asepsis 503
Askomyzeten 245, 267
Askokokkus 13
Askus 267
— Hefe 96
Asparagin 92
— Gärung 289
Asparaginase 289
Asparaginsäure 279
Aspergillus Batatae Saito 491
— glaucus 269
— — bei der Essiggärung 370
— Konidienbildung 268
— luchuensis 490
— niger 491
— — Stickstoffbindung 312
— oryzae 248, 269
— — bei der Batatenbrennerei 490
— — — — Essiggärung 370
Asporogene Rassen der Hefe 199
Asporogenie der Hefe 199
Assimilation 156
— bei der Hefe 218
Atmung 161
— der Hefe 218
Atmungskoeffizient 220
Äthylalkohol als Desinfektionsmittel 501
— Bildung durch Amylobacter 309
— Oxydation durch Mykodermen 236
— Wirkung auf die Hefe 227
Äthyläther als Desinfektionsmittel 502
Äthylidenmilchsäure 103
Aufbewahrungsgefäße für Milch 514
Aufstandsrohr des Filterbrunnens 520
Augen des Käses 339
Aussprossungen der Bakterioiden 303
Autobiose 148
Autokatalyse 86
Autoklav 493
Autolyse 164
— der Hefe 209
Auxanographie 215
Awamori 490
Azeton als Desinfektionsmittel 502
Azidoxydase 89, 101
— in der Hefe 211
Azotobacter agile 311
Azotobacter chroococcum 81
— — N-Bindung 310
— vinelandii 311
— vitreum 311
Azygosporen 266

Bacillus 13, 171
— acidificans longissimus, bei der Mehlteiggärung 446
— — — in der Brennerei 474
— acidi lactici 103
— Aderholdi 443
— aerogenes 319
— — in der Kotbeize 422
— amylobacter 60, 66
— — A. M. et Bredemann, Buttersäuregärung 372
— — bei der Röste 385
— — in Milch 320
— — Stickstoffbindung 309
— amylocyma 373
— asterosporus 61, 65
— — bei der Rotte 384
— — N-Bindung 309
— bernensis 338
— bipolaris 72
— botulinus 517
— Brassicae fermentatae 441
— Bütschlii 72
— calfactor 389
— carotovorus 97
— casei bei der Käsereifung 357
— — Freudenreich 323
— cellobiosae 381
— centropunctatus 297
— chlororaphis 109
— coli 34, 94, 95
— — bei der Rotte 384
— — im Braunheu 393
— — in Abwasser 528
— — in Milch 319
— — Gurkensäuerung 443
— — Mig. forma foenicula 389
— Comesii 385
— cucumeris fermentati 443
— cyaneofluorescens 110
— — blaue Milch 328
— cyanogenes, blaue Milch 328
— Delbrücki 103, 158
— — beim Lüftungsverfahren 483
— — in der Brennerei 474
— Delbrückii Leichmann 323
— dendriticus 421
— denitrificans 297
— — I 297
— — II 297
— dilaboides 66
— enteritidis 517
— erodiens 422
— esterificans 452
— felsineus Carbone 385
— ferrugineus 382
— filefaciens 297
— fluorescens 102

Bacillus fluorescens liquefaciens 91
— — — Gurkensäuerung 443
— foetidus 332
— fossicularum 378
— furfuris 423
— gasoformans in der Kotbeize 422
— gelaticus 96
— gummosus 79
— Hartlebii 297
— inflatus 62, 65
— Kefir 452
— lactis acidi 319
— lacticus 319
— — albus, in der Gerberei 421
— — innocuus Wilde 321
— — saponacei 328
— leptodermis 65
— leptosporus 72
— levaniformans 415
— levans 445
— Lindneri 462
— liodermos 403
— loxosporus 72
— loxosus 72
— macerans 385
— manniticus 157
— maximus bucalis 30
— megatherium 66, 80
— — Gurkensäuerung 443
— — in der Kotbeize 422
— mesentericus, bei der Röste 385
— — fuscus 401
— — — bei der Senfzerstörung 417
— — niger, bei der Senfzerstörung 417
— — panis viscosi II 403
— — ruber, bei der Senfzerstörung 417
— — vulgatus, bei der Senfzerstörung 417
— methanicus 159, 161
— methanigenes 375
— mexicanus 457
— mycoides 65
— — im Braunheu 393
— nitri 30, 62
— — Ambrož 21
— nitroxus 297
— nobilis 338
— opacus 441
— oligocarbophilus 161
— orthobutylicus 374
— panis 403
— — fermentati 446
— — viscosi I 401
— pantotrophus 161
— paratyphosus 517
— praepollens 297
— prodigiosus 20, 75, 95, 112, 311
— — Fettspaltung in Butter 332
— — in Butter 332
— — in der Kotbeize 422
— — N-Bindung 311
— — Rotfärbung der Milch 328
— proteus 279
— — Bildung von l-Indol-pr-3-α-Milchsäure 283
Bacllius proteus, Carbamidspaltung 290
— — Spaltung von Asparagin 289
— putrificus 372
— — Bienstock 372
— — in Milch 320
— pyocyaneus 75, 102
— radiobacter 297
— roseus 470
— saprogenes carnis 278
— Schirokikhi 297
— sinapivagus 417
— sinapivorax 417
— subtilis 48, 54, 59, 60, 80
— — bei der Selbsterhitzung 389
— — — — Senfzerstörung 417
— — Gurkensäuerung 443
— — in Abwasser 528
— — in der Kotbeize 422
— — Oxydation der Dextrose 161
— synxanthus, gelbe Milch 328
— teres 65
— tetani 34, 65
— thiogenus 431
— typhi 34
— — Ameisensäurebildung 341
— thyrosinaticus 102
— ventricosus 443
— violaceus 44, 111
— — in Milch 328
— viridis 159
— viscosus bruxellis 454
— — sacchari 79, 410
— — vini 79, 471
— — I van Laer 463
— — II „ „ 463
— — III van Dam 463
— vulgatus 402
— xerosis 75
Bacteria 170
Bacteriaceae 171
Bacteriochlorin 112, 159
Bacteriopurpurin 159
Bacterium 171
— aceti 26, 77, 102
— — Brown 352
— — Hansen 354
— acetigenum Henneberg 363
— acetosum 100
— — Henneberg 354
— — im Betrieb 365
— acidi lactici Hüppe 321
— Actinopelte 297
— albuminosum 352, 462
— allii, Bildung von Ptomain 282
— anthracis 62, 75
— ascendens, Acetaldehydbildung 347
— — Säuremenge 350
— bovista 431 —
— brachysporum 66
— Brassicae 441
— — acidae 441
— butyri rubri 332
— caucasicum 451
— — bei der Käsereifung 335

Bacterium caucasicum, Lehmann et Neumann 323
— casei Leichmann 323
— chlorinum 159
— chrysogloea 112, 311
— — N-Bindung 311
— Coeruleum , blaue Milch 328
— coli 75
— — Ameisensäurebildung 341
— curvum Henneberg 362
— — Nährlösung 344
— egregium 112
— dysenteriae 75
— ethaceticum, Ameisensäurebildung 341
— flexile 66
— gracile 468
— Güntheri 319
— — var. inactiva 443
— Hensenii 297
— indigogenes 95
— industrium 352
— — Säuremenge 349
— Kützingianum 102
— — Hansen 356
— lactis aerogenes 444
— — erythrogenes 328
— — longi 329
— Leichmanni in Milch 319
— limbatum Marpmann 321
— lipsiense 311
— — N-Bindung 311
— lobatum 297
— mallei 75
— nitrovorum 297
— orleanense Henneberg 359
— — im Betrieb 365
— — Nährlösung 345
— oxydans 100, 352
— panis 60, 66
— — Fuhrmann 401
— Pasteurianum 24
— — Acetaldehydbildung 346
— — Hansen 355
— — Var. variabile Hoyer, Säuerungsverlauf 348
— pediculatum bei der Zuckerfabrikation 410
— peritomaticum 66
— Petroselini 70
— pituitans 66
— pneumoniae 75, 95
— — Friedländer 321
— — — N-Bindung 311
— polychromicum 109, 112
— rancens Beijerinck 356
— — im Betrieb 365
— sapolacticum 328
— Schützenbachi Henneberg 361
— — Nährlösung 344
— tartaricum 311
— — N-Bindung 311
— vermiforme 39, 457
— vini acetati Henneberg 360
— — — Nährlösung 344
Bacterium viride 159
— vulgare bei der Senfzersetzung 417
— — Erreger der Fleischvergiftung 517
— xylinoides Henneberg 359
— — im Betrieb 365
— xylinum 79, 100
— — bei der Senfzersetzung 417
— — Brown 360
— — — Hautbildung 342
Bakterien, Größe 21
— thermogene 389
— thermophile 392
Bakterienchymase 93
Bakteriendetritus 58
Bakterienfarbstoffe 109
Bakterienfett 42
Bakteriengeißeln 31
Bakteriengehalt des Flußwassers 519
— — städtischen Abwassers 528
Bakteriengifte in Nahrungsmitteln 516
Bakterienglykogen 43
Bakterienhämolysine 93
Bakterienkolonien 48
Bakterienkonidien 63
Bakterienlab 93
Bakterienniveau Beijerincks 429
Bakterienplatten Jegunows 42
Bakteriensporen, Bildung 59
Bakterientoxine 108, 516
Bakterienzymase 89, 103
Bakterioiden 299, 301
— Aussprossungen 303
Bakterioerythrin 111
Bakteriopurpurin 109
Bakterizide Phase der Milch 317
Barbets Reinzuchtapparat 479
Batatenbranntwein 490
Bau der Hefesporen 201
Baustoffwechsel der Bakterien 155
Beggiatoa 13
— alba 21, 430
— marina 430
— media 430
— minima 430
— mirabilis 21, 43, 430
— Trevisan 173
Beggiatoaceae 173
Beggiatoen in Abwasser 526
Beize, kombinierte 423
Beize, Leder 422
Benedixens Reinzuchtapparat 477
Benzol als Desinfektionsmittel 502
Benzol-Senföl bei der Anreicherung von Essigbakterien 369
Berkefeldfilter 494
Bernsteinsäure, Bildung durch Bakterien 157
— Kohlenstoffquelle für Hefe 217
— Nahrung für Torula 237
— Nährstoff für Mykodermen 235
Betain, Vorkommen bei der Verwesung 282
Betriebshefe, Reinhaltung 238
Betriebsstoffwechsel der Bakterien 160
Bewegungsform der Geißeln 35

Bier 459
Bieressigbakterien 354
Bierkrankheiten 461
Bierwürze, Zusammensetzung 461
Biestmilch, Abnahme der Keimzahl 317
Binnenzelle 262
Biologie der Hefe 231
Biologische Füllkörper 529
Biologische Selbstreinigung des Wassers 523
Biologische Tropfkörper 530
Bios 231
Bittere Butter 327
Bitterwerden des Weines 471
Blähen des Käses 339
Blausäure 87
Blepharoplast 35
Blinder Käse 340
Büschelige Begeißelung 34
Böcksern des Weines 471
Bodensatzhefe 180
Bohnenschoten, Einsäuerung 445
Bombage der Konservenbüchsen 516
Bosa 456
Botrytis cinerea 465
Botrytis cinerea beim Braunwerden des Weines 470
Bottichbildner 368
Botulinusbazillus 108
Botulinustoxin 517
Botulismus 516
Branntweinbrennerei 473
Brauerei, obergärige 229
— untergärige 229
Braunheu 392
Braunwerden des Weines 470
— — Weißweines 102
Brechen des Weines 211, 470
Brennerei 230, 473
Brennereihefe 474
Brennheu 394
Brettanomyces 238
Briekäse, Gehalt an Fettsäuren 338
Brom als Desinfektionsmittel 501
Brot, Fadenziehen 400
Bruchhefe 229, 460
Brückenpilze 265
Bukettbildung 468
Busa 456
Butter, Bakteriengehalt 329
— bittere 332
— fischige 332
— ölige 332
— Ranzigwerden 331
— rübige 332
Butterfehler 331
Buttersäure, Bildung durch Amylobacter 309
— im Hefefett 207
— in der Brennerei 475
— Wirkung auf Kulturhefen 224
Buttersäurebakterien im Abwasser 528
Buttersäurebakterien in Butter 309
Buttersäuregärung 371
Butylalkohol, Bildung bei der Gärung 222
Butylgärung 374

Cacaonin 399
Cadaverin, Fäulnisabbau 281
Calcium, doppeltschwefligsaures, als Desinfektionsmittel 500
Calciumcyanamid 290
Camembert, Gehalt an Fettsäuren 338
Carboxylase 212
Carlsberg-Gefäße 240
Carlsberg-Unterhefe Nr. 1, 181
Carlsberg-Unterhefe I und II 246
Carne secca 510
Casease der Milchsäurebakterien 326
Cellulin 524
Cerevisiae-Typus 180
Chalara Mycoderma Cienkowski 257
Chamberlandsche Kerzen 494
Champagner 464
Cheddarkäse 333
Chemie der Bakterienzelle 74
Chemie der Hefezelle 204
— — Hefezellwand 206
Chinesische Hefe 276, 487
Chinesischer Reisbranntwein 487
Chinon als Wasserstoffakzeptor 346
Chitin 80
Chlamydobacteriaceae 172
Chlamydosporen 274
Chlamydothrix n. G. 172
— ferruginea 435
— ochracea 40, 435
— sideropous 435
Chlor als Desinfektionsmittel 501
Chlor in der Hefenasche 205
Chlorella, N-Bildung 312
Chloriger Geruch des Bieres 463
Chlorkalk als Desinfektionsmittel 501
Chloroform als Desinfektionsmittel 502
Chlorothecium, N-Bindung 312
Chlorwasserstoffsäure, Wirkung auf Hefen 225
Chromatiaceae 176
Chromatin 62
Chromatinkorn 30
Chromatium Okenii 21, 59
— Perty 176
— violascens 59
— Weißii 59
Chromidiales System 30
Chromopare Bakterien 110
Chromophore Bakterien 110
Chromosom 31
Chroococcus 12
Cholera, Übertragung durch Milch 320
Choleravibrio 54
Choleravibrionen 75
Cholesterin im Hefefett 207
Cholin 282
Chüppo 449
Chymase 89
Chymosin im Hefepreßsaft 209
Cicer arietinum, Knöllchen 300

Citromyces glaber 274
— Pfefferianus Wehmer 273
— Wehmer 272
Citrus limonellus, bei der Arrakbereitung 489
Cladothrix 13, 172
— dichotoma 40, 64, 436
— — in Abwasser 525
— -Entwicklungskreise 58
Cladosporium butyri 331
— herbarum bei der Rotte 388
— in bitterer Milch 328
Clonothrix ferruginea 40
— fusca 435
Clostridium 60
— americanum, Stickstoffbindung 309
— gelatinosum in der Füllmasse 410
— licheniforme 337
Coccaceae 170
Co-Enzym der Zymase 106
Coffein 399
Columella 267
Coniferin 95, 400
Coniferylalkohol 400
Corynebacterium Lehm. u. Neum. 177
Crenothrix 13, 64
— Cohn 172
— polyspora 48, 64, 436
Cyanamid, Hydratation 290
Cyanophyceen, N-Bindung 312
Cyanophycin-Körner 192
Cycadeen, Wurzelknöllchen 307
Cystin 279
Cystococcus, N-Bindung 312
Cystosin im Hefenuklein 207

Dampfsterilisation 493
Dauerzelle 56, 189
Dauerzellen, Hefe 194
Degenerationsformen 23
Dematium pullulans 471
— — de Bary 259
Denitrifikation 168, 295
Depothefe 180
Desaminierung 280
Desinfektion, chemische 496
Desinfektionsmittel, gasförmige 497
— mineralische 499
— organische 501
Dessertwein 464
Deutsches Verfahren bei der Essigerzeugung 367
Dextran 79
Diäthylarsin, Bildung durch Penicillium brevicaule 272
Diaminocapronsäure, Fäulnisabbau 281
Diaminosäuren, Gehalt der Hefe 207
Diaminovaleriansäure, Fäulnisabbau 281
Diastase 11, 96
Dichtmilch, schwedische 329
Digestio 1
Dimethylamin, bei der Fäulnis 282
Diplokokken 17
Dioxyaceton-Bildung 156
Diphtherie, Übertragung durch Milch 320
Diphtheriebazillus 26
Diphtherietoxin 108
Disaccharasen 89, 97
Dispora caucasica 451
Dissimilation 156
— bei der Hefe 218
Doppelessig 370
Doppelkugelbakterien 17
Drainwasser 529
Drosophila fenestrarum 363
— funebris 363
Drucke, hohe Wirkung auf Bakterien 154
Druckfilter 521
Dschuurt 449
Dürrheu 394
Dunder 485

Edamer, Gehalt an Fettsäuren 338
Edelfäule 465
Einschwefeln 500
Eisenbakterien 40
— Physiologie 433
Eisen, Nahrungsstoff für Hefe 213
Eisenoxyd in der Hefenasche 205
Eisenspeicherung in Bakterien 434
Eiweißkristalloide in der Hefe 234
Ektotoxine 108
Elaeagnus angustifolius, Wurzelknöllchen 307
Elastin 91
Elektrizität, galvanische 88
— statische 88
— Wirkung auf die Essiggärung 350
Ellipsoideus-Typus 180
Emmentaler, Gehalt an Fettsäuren 338
Emmentaler Käse, Keimgehalt 333
Emulsin 11, 94
— in der Hefe 209
Endomyces fibuliger Lindner 260
Endosporen, Hefe 201
Endotoxine 108
Endotryptase der Hefe 208
Entkeimung durch chemische Mittel 496
— — Filtration 494
— — Licht 495
— — Wärme 492
— kombinierte 502
— physikalische 492
Entwicklungskreise der Bakterien 55
Entwicklungskreis von Cladothrix 58
Enzyme 83
— der Hefe 208
— Wirkung von Benzoësäure 87
— — — Phenol 87
— — — Salizylsäure 87
— — — Senföl 87
— — — Thymol 87
Enzymnomenklatur 88
Epiplasma 201
Erbsen, Einsäuerung 444
Erdpassagen für N-bindende Bakterien 309
Ergastische Gebilde 188

Ereptasen 89, 91
Erle, Wurzelknöllchen 307
Erodin 422
Erschütterungen, Wirkung auf Bakterien 155
Erythrin 419
Essig 370
Essigälchen 371
Essigbakterien, Verhalten gegen Flußsäure 369
— — — schweflige Säure 369
— — — Salpetersäure 369
— — — Salzsäure 369
— wilde 351
Essigbildner 367
Einbildnersystem bei der Essiggärung 368
Essigbildung, Temperaturoptimum 350
Essigfliege 363
Essiggärung 9, 345
— anaërob 346
Essigmaische 345
Essigmutter 341
Essigsäure, Bildung durch Amylobacter 309
— — — Bakterien 157
— Nährstoff für Mykodermen 235
— Wirkung auf Hefezellen 224
Essigsäurebakterien im Dunder 485
— Hansenianum-Gruppe 351
— haplotrophe 351
— Pasteurianum-Gruppe 352
— Rancens-Gruppe
— Schützenbach-Gruppe 351
— Xylinum-Gruppe 352
Essigsäuregärung 100, 341
— anaërobe bei der Zuckerfabrikation 409
Essigsprit 370
Essigstich des Bieres 462
Essigstich des Weines 471
Essigverfahren nach Frings 366
Esterasen 89, 94
— in der Hefe 209
Esterbildung bei Torula-Gärung 237
Eubacteria 170
Eumyzeten 14
Euthiobacteria 173
Exine 69
Exkrete 159
Exosporium, Hefe 201

Fabriksabwasser 532
Fadenbakterien 19, 58
Fadenverbände 19
Fadenziehen des Brotes 400
— der Milch 326
Faeces vini 1
Färberknöterich 419
Färbung nach Gram 28
Farbstoffgärung 417
Faro 453
Faulbecken 531
Faulverfahren zur Abwasserreinigung 531
Fäulnis 278
— anaërobe, Bildung von Buttersäure 371
Fäulnis, gemischte 285
Fäulnisbasen 282
Ferment 2, 83
Fermentatio 1
Fett 41
Fett, Bakterien- 82
Fett der Hefe 192
Fett in Schimmelpilzen 264
Feuchtwerden der Raffinade 413
Fibrinfäulnis durch Bacillus putrificus 279
Fibrinogen 279
Fichtenspargel, Pilzwurzeln 307
Filter aus Ton 521
— Reifung 520
Filterbrunnen 520
Filterelemente aus Kunststein 521
Filterhaut 520
Filtration bei der Wasserreinigung 520
Fischvergiftung 516
Flachs 383
Fleckiger Käse 340
Fleischkonserven 508
— Verderben 516
Fleischkonservierung durch Kälte 509
Fleischmehl 510
Fleischmilchsäure 103
Fleischvergiftung 516
Flockenhaut 359
Flockenmilchsäurebakterien 484
Fluorammonium als Desinfektionsmittel 500
Fluorwasserstoffsäure als Desinfektionsmittel 500
Flußsäure, Wirkung auf Essigbakterien 369
Flußwasser, Bakteriengehalt 519
Formaldehyd als Desinfektionsmittel 502
— zur Hefewaschung 239
— Wirkung auf Betriebshefe 239
Formalin 502
Formamid, Spaltung 289
Foncroya gigantea 383
Fortpflanzung, geschlechtliche, bei Phycomyceten 265
Frohberg-Hefe 247
— — Trehalase 210
Froschlaich 407
Froschlaichbakterium 65
Fruktifikationsorgane der Schimmelpilze 265
Fruktose 97
—Vergärung durch Torula 237
Fruchtätherbildung durch Hefen 212
Füllkörper, biologische 529
Funkenlicht, Wirkung auf Bacillus prodigiosus 153
Fusarium in Abwasser 526
Fuselöle, Bildung durch die Hefe 220

Gadinin 283
Galaktan 79
Galaktose 98
— Vergärung durch Torula 237
Gallionella ferruginea 435

Galvanische Elektrizität 154
Gamete 266
Gärfische 512
Gärung 1, 8
— geistige 2
— saure 2
— wallende 2
Gärungsessigerzeugung, Schädlinge 370
Gärungsmilchsäure 103
Gärungstheorie, mechanische 2, 10
— molekular-physikalische 11
Gasphlegmonebazillus 372
Gazehaut 363
Gefrierfleisch 509
Geißeln 27
Geißelzopf 32
Gelase 96
Gelbbeeren 419
Gelose 96
Gemmen bei Dematium 259
Gemüse, Einsäuerung 439
Gemüsekonserven, Herstellung 439
Generationsdauer 54
Genetrische Nahrung der Hefe 215
Gentianase in der Hefe 210
Gerberei 419
Gespinstfasern-Gewinnung 383
Ginger-beer 457
Gingerbeer-plant 39
Gioddu 449
Gipsblock für Hefesporenkultur 197
Glasigbeizen 423
Glasbildung der Hartkäse 340
Gleichgewicht, echtes 84
— falsches 85
Globulin im Hefepreßsaft 207
Gloegenae 12
Glukonsäurebildung 156
Glukonsäuregärung 102
Glukose, Vergärung durch Torula 237
Glukosehefen 216
Glukuronsäure-Bildung 156
Glukuronsäure-Gärung 102
Glutaminsäure 279
— im Hefepreßsaft 207
Glutin 91
Glykogen 41, 43, 82
— in der Hefe 207, 192
— bei Mykodermen 234
— in Torula 236
Glykogenase in der Hefe 209
Glykogen-Atmungstheorie 220
Glykokoll 279
Glykosidasen 89, 94
Glykosidase in der Hefe 209
Glyzerinaldehyd-Bildung 156
Glyzerin, Abbau durch Mykodermen 236
— Bildung bei der alkoholischen Gärung 221
Gradierwerk zur Abwasserreinigung 531
Granulobacter pectinovorum 385
— polymyxa, N-Bindung 310
— reptans, N-Bindung 310
— saccharobutylicum 374
Granulobacter sphaericum, N-Bindung 310
Granulose 43
Grenzzellen 65
Gribki 449
Größe der Bakterien 21
Grubenhölzer, Verkohlung 383
Grundwasser 519
Grünpreßfutter 394
Guanase 289
Guanidin-α-Aminovaleriansäure, Fäulnisabbau 281
Guanin 81, 284
— bakterieller Abbau 288
— im Hefeplasma 207
— in der Hefe 206
Guanosin 284
Guanosinamidase 284
Gummibazillus 403
Gummikappenverschluß nach Stutzer 503
Gurken, Säuerung 443
— Veränderung beim Einsäuern 444

Hämolyse 93
Handelsmilch, Bakteriengehalt 315
Hanf 383
Hansenia apiculata, bei der Kaffeefermentation 398
— — in Bier 463
— — in der Lohbrühe 424
— — parasitica 250
— — Lindner 250
Hansenia Lindner 250
Haptophore Gruppe 108
Harnsäure 284
Harnsäure, Abbau durch Bakterien 288
Harnstoff 92
Harnstoffbakterien 287
— Verhalten gegen Desinfektionsmittel 287
— — — Temperaturen 287
Harnstoffgärung 287
Hauptgärung bei der Käsereifung 336
Hausfilter 521
Hautzellen, Hefe 194
Häute, Konservierung 420
Hefe, Anpassungsvermögen 228
— Autolyse 209
— chinesische 487
— Empfindlichkeit gegen Chlorwasserstoffsäure 225
— — — Phosphorsäure 226
— — — Salpetersäure 226
— — — Salzsäure 225
— — — Schwefelsäure 226
— — — schweflige Säure 226
— ergastische Gebilde 188
— in Butter 330
— in Milch 320
— Kernfusion 188
— Kernteilung bei der Sporenbildung 186
— Kopulation 188
— obergärige 460
— Selbstverdauung 208
— untergärige 460

Hefe, Verhalten gegen Alkohole 228
— — — Äthylalkohol 227
— Vermehrung 193
— Wassergehalt 204
— Zellhaut 188
— Zellsaftvakuolen 191
Hefeatmung 218
Hefe-Eiweiß, Zusammensetzung 206
Hefeenzyme 208
Hefefett 192
— Zusammensetzung 207
Hefefleck 232
Hefegummi 206
Hefe-Kernmembran 183
Hefekolonien 195
— Form 195
Hefengut, Herstellung 474
Hefenuklein 207
Hefenukleinsäure 213
Hefepilze, Zellform 179
Hefepreßsaft 105, 206
— Reaktion 206
— Trockensubstanz 206
Hefereinzucht 239
Hefereinzucht - Apparat nach Hansen-Kühle 240
— — — Lindner 243
Hefering 189, 194
Hefesporen, Bau 201
— Bildung 196
— Form 199
Hefesprossung 183
Hefewaschung 238
Hefezelle, Aschengehalt 204
— Chemie 204
— Elementaranalyse 206
Hefe, Zellgröße 182
Hefe-Zellkern 183
Hefezellwand Chemie 206
Hefe-Zytoplasma 182
Heißluftsterilisatoren 493
Hemizellulose 79
— in der Hefezellwand 206
Hemmungswert 497
Hetero-antagonistische Wirkung 148
Heterocysten 65
Heubazillus 48, 54, 59
— im Braunheu 393
— in Butter 330
Heugeruch der Milch 328
Hippursäuregärung 289
Histamin bei der Fäulnis 283
Histidin 279
— bei der Fäulnis 283
Honigessig 369
Humus 286
Humusstoffe, Wirkung auf N-Bindung 310
Hut bei Weingärung 467
Hydratationen 156
Hydrochinon 102
Hydrogenisation des Schwefels 426
Hydrolasen 89, 90
Hydroparacumarsäure 280
Hyphen der Schimmelpilze 261
Hypoxanthin 91, 284
— im Hefeplasma 207

Ichthyosismus 516
Imidacethylamin 283
Imidazol-α-aminopropionsäure bei der Fäulnis 283
Imidazolpropionsäure bei der Fäulnis 283
Indicanase 95
Indigo 95
Indigoblau 107, 418
Indigofera-Indigo 419
Indigo-Gewinnung 418
Indigotin 418
Indigoweiß 107
Indikan 418
Indimulsin 95
Indol aus Tryptophan 283
Indoxyl 95, 418
Indoxylase 418
Indyl-α-aminopropionsäure, Fäulnisabbau 281
Indylpropionsäure bei der Fäulnis 283
Infektionsverhütung 503
Influenzabazillus 21
Inframinimale Temperatur 151
Ingwerbier 248, 457
Inkubationsstadium der Milchsäuregärung 325
Inosin 284
Intine 69
Intramolekulare Atmung 162
Inulinase in der Hefe 209
Invertase 97
— in der Hefe 210
Invertin 97
Invertzucker 98
Involutionsformen 23
Iridin 95
Isatan 419
Isatase 419
Isatis tinctoria 418
Isoamylalkohol, Bildung durch Hefe 220
Isoantagonistische Wirkung 148
Isobuttersäure 286
Isobutylalkohol, Bildung durch Amylobacter 309
Isobutylessigsäure 286
Isopropylalkohol, Bildung durch Amylobacter 309

Jamaika-Rum, Zusammensetzung 486
Jaqueminscher Reinzuchtapparat 475
Jogen 43
Johannisberg II Hefe 247
Jute 383

Kaffee-Fermentation 397
Kaffeegewinnung, nasse Methode 397
— trockene Methode 397
Kahmhautpilze 254
Kahmhefe, graue 442
— weiße 442
Kahmhefen 254

Kahmhefen, Assimilation von Ammonsalzen 214
— bei der Preßhefe 484
— Empfindlichkeit gegen Buttersäure 224
— — — Essigsäure 224
— in Butter 331
Kahmigwerden des Weines 470
Kakao-Gewinnung 398
Kakaorot 399
Kakaorotte 398
Kaktusfeige 457
Kali in der Hefenasche 205
Kalium, Nahrungsstoff für Hefe 213
Kalk in der Hefenasche 205
Kalkmilch als Desinfektionsmittel 501
Kalkstickstoff, Spaltung 290
Kaltwasserröste 384
Kälte, zur Konservierung 513
Kältekonservierung der Fische 509
— von Fleisch 509
Kammerapparate für Essigerzeugung 368
Kaolin 83
Kapsel 38
Karbohydrasen 89, 94
— in der Hefe 209
Karbolsäure als Desinfektionsmittel 502
Kardinalpunkte der Sporulationstemperaturen von:
Saccharomyces cerevisiae 198
— ellipsoideus 198
— intermedius 198
— Pastorianus 198
— turbidans 198
— Willia anomala 198
— der Temperaturen für die Sporenbildung von Saccharomyces cerevisiae 198
Karotin 111
Kartoffelbazillen in Butter 330
Kartoffelbazillus 31
Kasuzu 370
Käse, fleckiger 340
— Keimgehalt 332
Käsebakterien 323, 332
Käsereifung 335
Käserinde, Bakteriengehalt 335
Katalasen 90, 107
Katalase in der Hefe 212
Katalyse 11
Katik 452
Kefir 449
— Zusammensetzung 451
Kefirkörner 450
Kehapu 449
Keimschlauch 261
— bei den Hefesporen 202
Keimschlauchverschmelzung bei Saccharomycedes Ludwigii 203
Keimung, äquatoriale 72
— der Bakteriensporen 70
— — Hefe mit Promycelbildung 202
— — Hefesporen 201
— — Schimmelsporen 268
— durch Sprossung, Hefesporen 201
Keimung, polare 72
— schräge 70
Kellergeschmack des Bieres 463
Kepü 449
Kern der Hefespore 201
— — Schimmelpilze 264
Kernfragmentation der Hefe 185
Kernfusion, Hefe 188
Kernmembran, Hefe 183
Kernteilung, Hefe 184
Kettenkugelbakterien 46
Ketonaldehydmutase 212
Kiaphir 449
Kichererbse, Knöllchen 300
Kiefer, Pilzwurzeln 307
Kieselgur für Filter 521
Kieselsäure in der Hefenasche 205
Kieselsäuregallerte 292
Kinasen 86
Kleienbeize 423
Knöllchen der Leguminosen 300
Knöllchenbakterien 298
— der Sojabohne 303
— Verhalten gegen Koffeïn 303
— — — Theophyllin 304
— — — Theobromin 304
Knöllchenbakterien, Virulenz 306
Knospung, Hefe 185
Koagulasen 89, 93
Koeffizient, ökonomischer 148
Ko-Enzyme 86
Koffein, Wirkung auf Knöllchenbakterien 303
Kohle als Filtermaterial 521
— Sumpfgasgärung 382
Kohlensäure, Wirkung auf die Gärung 228
Koji des Awamori 490
— — Batatenbranntweines 491
Koks als Filtermaterial 521
Kollagen 91
Kolonien von Bakterien 48
Kolonien, Hefe 195
Kolonien, Vibrio aquatalis fluorescens 49
Kolostralmilch, Abnahme der Keimzahl 317
Komstkraut 442
Kondensationen 156
Kondensationsanlagen bei der Essigerzeugung 368
Konidien 58
Konidienträger 267
Konservenbüchsen 506
Konservenflaschen Weck 504
Konservengläser 506
Konservierung durch Kälte von Nahrungsmitteln 513
— von Nahrungsmitteln 505
Kopulation, Hefe 188
Kopulationsvorgang 59
Kopulationszelle 266
Kor 452
Kotbeize 422
Kot des Bieres 2
Kot des Weines 2

Krankheitshefen 181, 461
Kreidekrankheit des Brotes 260
Kreislauf der Hefe 231
— des Kohlenstoffes 168
— — Stickstoffes 166
Kreolin 502
Kresolin 502
Kriekenbier 455
Kristalloide bei Schimmelpilzen 264
Kristalloide der Hefe 191
Kristalloid in Mykodermen 234
Kryoflora der Milch 319
Krystalloid, Hefe 183
Kugelbakterien 16
Kugelhefen 274
Kugelzellen bei Mucor 274
Kuhgeruch der Milch 328
Kuhmilch, Bakteriengehalt 313
Kulturessigbakterien 351
Kulturhefen, Empfindlichkeit gegen Oxalsäure 224
Kulturmilchsäurebakterien in der Brennerei 474
Kulturweinessigbakterien 357
Kumiß 452
— Zusammensetzung 453
Kunsthefe in der Brennerei 474
Kunsthefemaische 230
Kunststein als Filterelement 521
Kunstwein 464
Kupfer-Kalk-Brühe 226
Kupfersalze als Desinfektionsmittel 500
— Wirkung auf Hefen 226
Kurzwellige Strahlen, Wirkung auf die alkoholische Gärung 222
Kwaß 455
— Zusammensetzung 456

Lab der Milchsäurebakterien 326
Lab in der Hefe 209
Lack japanischer 102
Lagerbier, Zusammensetzung 461
Laktase 98
— in der Hefe 210
Laktose 98
— Vergärung durch Torula 237
— Wirkung auf die Sporenbildung der Hefe 197
Laktosehefen 216
Lambic 453
— Zusammensetzung 454
Lamprocystaceae 175
Landrotte 384
Langmilch 329
Langwerden des Bieres 463
— — Weines 471
Lathyrus, Knöllchenbakterien 304
— sativus, Knöllchen 300
Lebenspause 165
Lebkuchen, Nürnberger 446
Lecithin 82
— Fäulnisabbau 282
— im Hefepreßsaft 207
Leder-Beize 422
Lederhaut 359
Leitpilze in Vorflutern 524
Leptomitus im Abwasser der Schlachthäuser 532
— lacteus 524
— — Nährlösung 524
Leptothrix 13
Leucin 279
— im Hefepreßsaft 207
— in der Hefe 206
Leuchtbakterien 148
Leuconostoc mesenterioides 65, 79
— — bei der Zuckerfabrikation 407
Leuco-Thiobacteria 173
Leukozidin 89, 94
Lezithalbumin in der Hefe 207
Licht, ultraviolettes, zur Entkeimung 496
— Wirkung auf die Essiggärung 350
Lichtwirkungen 152
Likörwein 464
Limanschlamm 427
Lipase 89, 94
— in der Hefe 209
Lipozyaninreaktion 111
Logos-Hefe 247
— — Insulinase 209
Lohbrühe 424
Lohgerberei 423
Lophotriche Begeißelung 34
Lufthefefabrikation 230
Luftzellen 256
Lüftungsverfahren 483
Lupine, Knöllchen 300
Lupinus, Knöllchenbakterien 304-
Lysin, Fäulnisabbau 281
Lysol 502

Magnesia in der Hefenasche 205
Magnesiagipsplatte 292
Magnesium, Nahrungsstoff für Hefe 213
Maischapparate 473
Maische beim Wiener Verfahren 483
— für Spirituserzeugung 473
— -Essigbakterien 352
Makrokonidien 64
Maltase 98
— in der Hefe 210
Maltonwein 458
— Zusammensetzung 458
Maltose 96
— Bildung aus Glukose 158
— Vergärung durch Torula 237
Maltose, Wirkung auf die Sporulation der Hefe 197
Maltosehefen 216
Malzessig 369
Malzwein 458
— Zusammensetzung 458
Mangan in der Hefenasche 205
Manganspeicherung in Eisenbakterien 434
Manilahanf 383
Mannit 101
Mannitbildung 157

Mannitgärung bei der Zuckerfabrikation 410
— im Weine 470
Mannose, Vergärung durch Torula 237
Marcitin, Bildung bei der Leimfäulnis 282
Marktmilch, Bakteriengehalt 315
Mars 453
Maul- und Klauenseuche, Übertragung durch Milch 320
Mauritiushanf, Gewinnung 383
Maya bulgaris 448
Mazun 447
Mazunhefe, Laktase 210
Medicago, Knöllchenbakterien 304
Mehl Bakteriengehalt 445
Mehltau, falscher 226
Mehlteiggärung 445
Mehrbildnersystem 368
Melasse, Spirituserzeugung 473
Melassenbrennerei 481
Melibiase 98
— in der Hefe 210
Melibiose 97, 98
— Vergärung durch Torula 237
Melizitose, Vergärung durch Torula 237
Membranstoffe, stickstofffreie 79
Merismopedia 13
Merismopedien 47
Mesosaprobien 526
Metabiose 148
Metachromatische Körnchen 44
— — in der Hefe 191
Methanbazillus 21
Methangärung 96
— der Zellulose 375
Methan-Wasserstoffgärung 381
Methylalkohol, Bildung bei der Gärung 222
Methylamin bei der Fäulnis 282
Methylenblau 107
— als Wasserstoffakzeptor 346
Methylglykosid 104
Methylglyoxal, Abbau 211
β-Methylindol aus Tryptophan 283
Mezzoradu 449
Micrococcus 13
— acidovorax 468
— aureus 112
— butyricus 31
— candicans Flügge 324
— casei liquefaciens 338
— cremoides Zimmermann 324
— denitrificans 297
— dermatogenes 146
— grossus 33
— gummosus 79
— (Hall.) Cohn 171
— lactis acidi Marpmann 324
— malolacticus 468
— mycoides roseus 110
— progregiens 21
— pyogenes 151
— — Rosenbach 324
— roseus 110
Micrococcus sulfureus 311
— — N-Bindung 211
— tener 443
— tetragenus 38
— ureae Cohn 21
— ureae, Spaltung von Hippursäure 289
— variococcus 468
Microspira 171
— aestuaria, Schwefelwasserstoffbildung 426
— desulfuricans, Schwefelwasserstoffbildung 425
— vacillans 44
Mikrokonidien 64
Mikrosomen 191
Mikrosol 500
Milch, Frischhaltung 515
— für Säuglinge 513
— homogenisierte 513
— kondensierte 513
— Konservierung 513
— trockene 513
Milchhefen 237
Milchkonserven 513
Milchsäure, Bildung durch Bakterien 157
— — — Bacterium pneumoniae Friedländer 321
— für Hefewaschung 238
— in der Brennerei 475
— Nahrung für Torula 237
— Nährstoff für Mykodermen 235
— Wirkung auf die alkoholische Gärung 225
— Wirkung auf Kulturhefen 225
Milchsäurebakterien 320
Milchsäuregärung 103
— bei der Zuckerfabrikation 409
Milchsäurestich des Weines 472
Milchsäurestreptokokken bei der Käsereifung 335
Milchsäureverfahren in der Brennerei 474
Milchschimmel 258
Milchzucker 98
Milzbrand, Übertragung durch Milch 320
Milzbrandbakterien 75
Mineralisierung organischer Substanz 526
Mineralwässer, Eisenbakterien 437
Miso 269
Modern des Weines 470
Molkereigeräte, Beschaffenheit 316
Monaminosäuren, Gehalt der Hefe 207
Monilia 255
— javanica Went 257
— sitophila Saccardo 257
— variabilis Lindner 256
Monotriche Begeißelung 33
Montanin 500
Moromi 491
Mucin in verschleimter Milch 327
Mucoraceen 274
Mucorhefen 274
Mucor hiemalis bei der Winterlandrotte 387
Mucorin 264

Mucorineen in Abwasser 526
Mucor javanicus im Tapej 490
Mucor mucedo 275
— — bei der Rotte 388
— — in Butter 331
— — Myzel 263
— Praini 488
— pusilus im Braunheu 393
— racemosus 276
— — in Abwasser 526
— Rouxianus Wehmer 276
— Rouxii 276
Musa textilis 383
Muscarin, Vorkommen bei der Verwesung 282
Muschelvergiftung 517
Mutterhefe in der Brennerei 475
Mutterhefemaische 230
Mycelbildung, Hefe 194
Mycobacteria 177
Mycobacteriaceae 177
Mycobacterium Lehm. u. Neum. 177
Mycoderma 234, 254
— cerevisiae Desm. 254
— I in Sauerkraut 442
— II „ „ 442
— sphaeromyces, Dextrinspaltung 209
— vini Desm. 255
— Wachstum auf festen Nährböden 235
Myconostoc 13
Mydin 283
Mydotoxin 283
Mykodermen, Größe 234
— Oxydation von Äthylalkohol 236
Mykomyceten 261
Mykorrhiza der Kiefer 307
— — Orchideen 307
— des Fichtenspargels 307
— ektotrophe 307
— endotrophe 307
Mykose 98
Myrosin 416
Mytilotoxin 517
Myxococcus Betae Gonnermann 408
Myzel der Schimmelpilze 261

Nachgärung bei der Käsereifung 339
Nahrungsmittel, Konservierung 505
— — durch Kälte 513
Nährboden für Leptomitus 524
Nährstoffe, Enwirkung auf die Sporenbildung der Hefe 197
Nährwert des Nährbodens 148
Natron in der Hefenasche 205
Negerbier 457
Nematogenae 13
Neottia nidus avis, Pilzwurzel 307
Netzwerk, gelatinöses 190
— krystallinisches 190
Neurin 282
Neutralfett 82
Neutralsalze, Wirkung auf Desinfektionsmittel 499
Newskia ramosa 39
Nitratbazillus 33
Nitratbakterien 291, 294
Nitrifikation 291
Nitrifikationsbakterien 158
Nitrifikationsmikroben, Biologie 163
Nitritbakterien 291
Nitritbakterium aus Java 293
— — — Petersburger Erde 293
Nitritkokkus aus Quito 294
Nitrobakterien 291
Nitrosobakterien 291
Nitrosokokkus aus Campinas 294
Nitrosomonas 33, 292
Nodofolium Ellis 435
Nonylsäure, Wirkung auf die alkoholische Gärung 224
Normalbutylalkohol, Bildung durch Amylobacter 309
Nostoc, N-Bindung 312
Nucleoalbumin 80
Nucleosidase 284
Nucleotid 284
Nucleotidase 284
Nuklease 89, 91, 284
— in der Hefe 209
Nuklein 80
Nukleinsäure 80, 91
Nukleoalbumin 91
Nukleoalbumin im Hefepreßsaft 207
Nukleoproteide 91

Oberflächenspannung als Energiequelle 162
Oberflächenwasser 519
Obergärige Brauerei 229
Obergärung 180
Oberhefe 180
— Aschengehalt 204
Obstessig 369
Ödembazillus 372
Ölweide, Wurzelknöllchen 307
Oenanthäther 468
Oenobacillus Abbae 470
Oenoxydase 102, 211, 470
Oidium 16
— lactis 327
— — bei der Käsereifung 337
— — Fresenius 258
— — in Butter 331
— — im Kefir 451
Oktylalkohol, Wirkung auf die Gärung 228
Oligosaprobien 526
Ölige Butter 332
Öl in Schimmelpilzen 264
Ölkörperchen 193
— bei Torula 236
Öltröpfchen 193
Onobrychis, Knöllchenbakterien 304
Oogon 265
Oomyceten 265
Orchideen, Pilzwurzeln 307
Organische Nahrungsstoffe der Hefe 214
Orleans-Verfahren 342, 364, 369

Ornithin 92
— Fäulnisabbau 281
Ornithopus, Knöllchenbakterien 304
Orseillegärung 419
Orthodinitrokresolkalium 502
Orthothermophile Bakterien 150
Orzellinsäure 419
Orzin 419
Oxalsaurer Kalk in der Hefenasche 204
— — in Schimmelpilzen 264
Oxalsäure, Wirkung auf Kulturhefen 224
Oxalsäurebildung 156
Oxalsäure für Hefewaschung 238
Oxalsäuregärung 101
Oxydasen 89
— in der Hefe 211
Oxydationen 156
Oxydoreduktion 211
Oxygenasen 99
Ozon als Desinfektionsmittel 501

Palmitinsäure im Hefefett 207
Papayotin 91
Papillionaceengelatine 299
Parachromophore Bakterien 111
Parachymosin 93
Parakasein 93
Paralysatoren 85
— spezifische 85
Paramilchsäure 103
Paraoxyphenyl-α-aminopropionsäure, Fäulnisabbau 280
Paraplasmatische Gebilde 191
Paraplectrum foetidum 337
Paraplektenchym 271
Parthenosporen 266
Pasteurisation 494
Pasteur-Kolben 239
Pastorianus-Typus 180
Pathogene Mikroben im Flußwasser 519
Pathologia animata 3
Pediococcus acidi lactici 443
— damnosus 462
— Hennebergi 462
— perniciosus 462
Pektinase 97
Pektingärung 383
Pemmican 510
Penicillium brevicaule Saccardo 272
— Camembert 272
— fluitans 526
— glaucum 262, 271
— — bei der Rotte 388
— — in Butter 331
— — N-Bindung 312
— Konidienbildung 268
— Roquefort 272
— roqueforti 338
Pentamethylendiamin, Fäulnisabbau 281
Pentylalkohol, Bildung durch Amylobacter 309
Pepsin 11
Pepsinasen 89
Peptinasen 89, 91
Peptinasen in der Hefe 208
Pepton im Hefepreßsaft 207
— in der Hefe 206
Perithecien 270
Peritriche Begeißelung 34
Peronospora viticola 226
Peroxydase 87, 99, 211
Petunierungsbrühe 396
Pflanzenmembranen als Filter 495
Phaseolus, Knöllchenbakterien 304
Phenol bei der Fäulnis 285
Phenolase 89, 102
— in der Hefe 211
Phenylaethylamin 283
Phenylalanin 279
— Fäulnisabbau 280
Phenyl-α-aminopropionsäure, Fäulnisabbau 280
Phenylessigsäure, Oxydation 285
Phenylpropionsäure, Oxydation 285
Philotion 212
Phosphatide, Fäulnisabbau 282
Phosphoglobuline 81
Phosphor, Nahrungsstoff für Hefe 213
Phosphorsäure für Hefewaschung 238
— in der Hefenasche 205
— Wirkung auf Kulturhefen 226
Phragmidiothrix Engler 172
Phycomyceten 261
Phycomycetenmyzel 263
Phytolipase 94
Phytozoidia 12
Pichia Hansen 252
— membranaefaciens Hansen 252
— Radaisii 457
Pilzflora der Vorfluter 524
Pilzwurzel der Orchideen 307
— des Fichtenspargels 307
Pinselschimmel, grüner 271
Pisum, Knöllchenbakterien 304
Planococcus n. g. 171
Planosarcina 171
Plasma der Schimmelpilze 264
Plasmodesmen 27. 29
Plastin 62
Plectridium 60
Plectridium pectinovorum 385
Plektenchym 271
Pleomorphie 26
Pökeln von Fleisch 511
Polygonum tinctorium 419
Polynucleotid, Abbau 284
Polysaccharasen 89, 95
Polysaccharosehefen 216
Polysaprobien 525
Porzellan für Filter 521
Preßhefe 482
Probien 7
Prodigiosin 112
Prolin 279
Promycelbildung bei der Keimung der Hefesporen 202
Propionsäure, Bildung durch Amylobacter 309

Propionsäurebakterien bei der Käsereifung 340
Propylalkohol, Bildung bei der Gärung 222
— — durch Amylobacter 309
Proteasen 89, 90
— in der Hefe 208
Proteosen im Hefepreßsaft 207
Proteusbakterien 75
Proteus mirabilis beim Äschern 421
Proteus vulgaris 75, 78
— — beim Äschern 421
— Zenkeri bei der Senfzersetzung 417
Pseudokatalysatoren 86
Pseudomonas 171
— aeruginosa 94
— — Spaltung von Asparagin 289
— cerevisiae 34, 57
— dermatogenes 34
— hyalina 44
— indigofera 21
— lucifera 19
— pyocyanea 297
— — N-Bindung 311
— trifolii 328
Pseudonuklein 80, 81
Pseudoramifikation 26
Psychrophile Bakterien 150
Psychrotolerante Bakterien 150
Ptomaine 282
Purinamidase 284
Purinbasen, Gehalt der Hefe 207
Purpurbakterien 109
Putrescin, Fäulnisabbau 281
Putridin 283
Pyocyanase 89, 94
Pyriminbasen, Gehalt der Hefe 207

Quarzlampe zur Entkeimung 496
Quecksilberchlorid als Desinfektionsmittel 500
Quecksilberdampflampe 153
Quellerz, Bildung durch Bakterien 437
Quellung als Energiequelle 162
Quellwasser 519

Rabdochromatium Winogradsky 176
Radiobacter Beijerinck, N-Bindung 311
Radiumstrahlen 88, 154
Räuchern von Fleisch 510
Raffinade, Feuchtwerden 413
Raffinase 97
— in der Hefe 209
Raffinose 95
Râgĕ-Fermentation 397
Ragi 488
Rahm, Bakteriengehalt 329
Rahnwerden des Weines 470
— — Weißweines 102
Rasenerz, Bildung durch Bakterien 437
Rauschbrandbazillus 66, 372
Reaktion des Hefepreßsaftes 206
Reduktase 107
— in der Hefe 212
Reduktasen 89
Reduktionen 156
Regenwasser als Trinkwasser 521
Reifung der Sandfilter 520
Reinigungsgärung mit Ameisensäure 238
— — Flußsäure 238
— — Milchsäure 238
— — Phosphorsäure 238
— — Salpetersäure 238
— — Salzsäure 238
— — Schwefelsäure 238
— — Weinsäure 238
— — Zitronensäure 238
Reinzuchtapparate für Brauereihefe 240
— — Brennerei 475
Reinzuchtapparat nach Barbet 479
— — Bendixen 477
— — Jaquemin 475
Reisbranntwein, chinesischer 487
Reservestoffe, organische, der Hefe 191
— stickstoffhaltige, der Hefe 191
Restplasma 201
Rhamnetin 419
Rhamnose 104
— Wirkung auf die Sporenbildung der Hefe 197
Rhizobium Beijerinckii 304
— radicicola 304
Rhizopus Cambodja 488
— japonicus 277
— nigricans bei Taurotte 387
— — Ehrenberg 276
— Tamari 488
Rhodobacillus Molisch 173
— palustris 111
Rhodobacteriaceae 172
Rhodobacterium Molisch 173
Rhodocapsa pendens Molisch 176
— suspensa Molisch 176
Rhodocapsaceae 176
Rhodococcus Molisch 173
Rhodocystis Molisch 172
Rhodonostoc Molisch 172
Rhodospirillum Molisch 173
Rhodo-Thiobacteria Bavendamm 174
Rhodovibrio Molisch 173
Riechstoffe durch Hefe 212
Rieselfelder 528
Riesenkolonien 48
— Hefe 195
— von Mycoderma 235
Riesenzellen bei Torula 236
Rippenfäule beim Tabak 396
Robinia, Knöllchenbakterien 304
Rohrzuckergewinnung 414
Rohstoffe beim Wiener Verfahren 483
Romadour-Käse, Gehalt an Fettsäuren 338
Röntgenstrahlen 88, 154
Roquefort, Gehalt an Fettsäure 338
Roquefort-Käse, Reifung 336
Röste von Gespinstfasern 383
Rotte, gemischt 384
— von Gespinstfasern 383
Rotwein, Gewinnung 467
Rotz, Übertragung durch Milch 320

Rotzbakterium 78
Rotzerreger 26
Rötze von Gespinstfasern 383
Rübenzucker, Fabriksabwasser 533
Rübenzuckergewinnung 411
Rübige Butter 332
Ruheform der Geißeln 35
Rumbrennerei 485

Saccharobacillus Pastorianus 462
— — var. berolinensis 463
Saccharomyces 14
— acetaethylicus, Dextrinspaltung 209
— — Nitratassimilation 214
— acidi lactici in der Lohbrühe 424
— apiculatus 216
— — Kreislauf 231
— Awamori 490
— batatae 491
— Brassicae I 441
— — II 441
— — III 441
— cartilaginosus in Kefir 452
— — Lindner 248
— cerevisiae Hansen 246
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— — — der Temperaturen für die Sporenbildung 198
— — in Kefir 451
— — Sporengröße 200
— — Sporenkeimung 202
— ellipsoideus Hansen 247
— — bei der Kaffeefermentation 398
— — in der Lohbrühe 424
— — Sporenform 200
— — Sporengröße 200
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— exiguus Hansen bei der Preßhefebereitung 484
— flava lactis 332
— foetidus I 463
— fragilis Jörgensen 249
— — in Kefir 452
— fragrans 216
— Hansenii 249
— — Azidoxydase 211
— intermedius Hansen 247
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— Kefir 216, 452
— — Laktase 210
— mali Duclaux 249
— Marxianus, Inulinase 209
— — Sporenform 200
— minor 446
— mycoderma, Assimilation von Milchsäure 218
— Pastorianus, in Bier 463
— — Hansen 247
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— — in der Lohbrühe 424
Saccharomyces pinophtorus enervans 249
— — melodus 249
— piriformis 457
— — Marsh. Ward 248
— Rees 246
— Saké Yake 248
— Soya Saito, Sporengröße 200
— subcutaneus tumefaciens 249
— theobromae 249
— — bei der Kaffeefermentation 399
— turbidans, in Bier 463
— — Hansen 247
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— Tyrocola, Laktase 210
— validus in Bier 463
— — Hansen 247
— — Sporengröße 200
— Vordermanni Went 248
Saccharomycetes 246
Saccharomycodes Hansen 251
— Ludwigii 194
— Ludwigii Hansen 251
— — Keimschlauchbildung 203
— — Sporengröße 200
Saccharomycopsis capsularis, Sporengröße 200
— — Sporenkeimung 202
— guttulatus, Sporenform 199
— Schiönning 251
Saccharose, Vergärung durch Torula 237
— Wirkung auf die Sporenbildung der Hefe 197
Saccharosehefen 216
Saaz-Hefe 246
Sachsia suaveolens Lindner 258
Saké-Essig 370
— -Hefe, Verhalten gegen Alkohol 227
Salicin 95
Salpetergärung 412
Salpetersäure, Wirkung auf Essigbakterien 369
— — — Hefen 226
— für Hefewaschung 238
Salzfleisch 511
Salzsäure, Wirkung auf Essigbakterien 369
— — — Hefen 225
— für Hefewaschung 238
Salzsteine im Käse 339
Sand als Filtermaterial 520
Sandfilter, Aufbau 520
— Wirkung 520
Saprophyten, toxigene 516
Sarcina 13, 47
— aurantiaca 112
— aurescens 34
Sarcina Goods 171
— maxima 21
— rosea 328
Sarkin, Fäulnis 284
— in der Hefe 206
Sarzinakrankheit des Bieres 461
Satzhefe 180, 204
Sauerfutter 394

Sauerfutter-Impfkultur 395
Sauerkraut 440
Säuerungsverlauf in Essigbildnern 367
Säuglingsmilch 514
Säurefestigkeit 28
Säuren, Wirkung auf Bacillus megatherium 147
— — — — prodigiosus 147
— — — — proteus 147
— — — — subtilis 147
— — — — syncyaneus 147
— — — Bacterium anthracis 147
Säuren, Wirkung auf die alkoholische Gärung 224
— — — Micrococcus pyogenes aureus 147
— — — Pseudomonas pyocyanea 147
— — — Sarcina lutea 147
Säurerückgang im Wein 468
Säurewecker 329
Schabzieger, Gehalt an Fettsäuren 338
Scharlach, Übertragung durch Milch 320
Schaumgärung bei der Kartoffelbrennerei 482
— der Füllmasse 410
Schaumwein 464
Scheitelzelle 262
Schilfsäckchen 495
Schimmelpilze 261
— in Butter 330
— in Milch 320
Schimmelsporen, Resistenz gegen Erwärmung 268
— Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknen 268
Schizasen 89
Schizomyzeten 45
Schizosaccharomyces Lindner 253
— mellacei, Inulinase 209
— — Jörgensen 254
— — bei der Rumgärung 485
— octosporus Beijerinck 253
— — Raffinase 209
— Pombe, Dextrinspaltung 209
— — Inulinase 209
— — Lindner 253
— — im Negerbier 458
— Vordermanni im Tapej 490
Schizosaccharomycetes 253
Schlauchlager 267
Schlauchpilze 245, 267
Schleierhaut 363
Schleimessigbakterien 351
Schleimhefen 471
Schleimsäure 79
Schlempe 483
Schnellessigbakterien 361
Schnellessigerzeugung 366
Schnellessigfabrikation 342
Schnellessigverfahren 370
Schnellfilter 521
Schnellpökelungsverfahren 512
Schnellräucherungsverfahren 511
Schraubenbakterien 20
Schwarzhanf 388
Schwärmer 55
Schwärmkolonien 58
Schwebekörperchen 41
Schwedische Dichtmilch 329
Schwefelbakterien 425, 428
Schwefel, Nahrungsstoff für Hefe 213
— im Abwasser 526
Schwefeleinschlüsse 43
Schwefelsäure für Hefewaschung 238
— in der Brennerei 475
Schwefelsäure in der Hefenasche 205
— Wirkung auf Hefen 226
Schwefelwasserstoffbildung im Bier 463
— im Weine 472
Schwefelwasserstoffgehalt, Ritomsee 427
— Rotsee 427
— Schwarzes Meer 426
— Weissowosee 426
Schwefelwasserstoffoxydation 161
Schweflige Säure als Desinfektionsmittel 500
— — Wirkung auf Essigbakterien 369
— — — — Hefen 226
Schwergärigkeit in der Melassenbrennerei 481
Schwitze, kalte 421
Schyzophytae 12
Schyzosaccharomyzeten 15
Seidenpapierhaut 359
Seifengeschmack der Milch 328
Sekrete 159
Selbstentzündung 392
Selbsterhitzung 388
Selbstreinigung des Wassers 522
Selbstverdauung der Hefe 208
Selbstverbrennung 164
Selleriegeruch des Bieres 463
Semiclostridium commune bei der Zuckerfabrikation 409
Senf, französischer, Bereitung 415
Senfgärung 415
Senfsamen 415
Sensibilisatoren 88
Septiertes Myzel 262
Serin 279
Sideroscapsa major 436
— Treubii 436
Sinalbin 416
Sinigrin 416
Skatolcarbonsäure 279
Skatol-Essigsäure 281
Soda als Desinfektionsmittel 501
Soja, Knöllchenbakterien 304
Sojabohne, Knöllchenbakterien 303
Soja-Sauce 269
Sonnenlicht 152
Soorhefe, Asche 205
Sorbit 100
Spalthefen 253
Spaltungsprodukte bei der Hefeselbstverdauung 208
Speiseessig 363
Spezifisches Gewicht des Hefepreßsaftes 206

Spezifizität der Enzyme 86
Sphaerotilus 172
Sphaerotilus in Sulfitzellulose-Fabriksabwässern 533
— natans 525
— — in Gradierwerken 531
— roseus 525
Spiralkern 30
Spirillaceae 171
Spirillum 13, 171
— adriaticum 53
— amyliferum 43
— bipunctatum 431
— endoparagogicum 62
— granulatum 431
— photometricum 59
— rubrum 59, 112
— volutans 21, 26
Spiritusgewinnung 473
Spirochaete 13
Spirochäten 177
Spirophyllum Ellis 435
Spirosoma 171
Sporangium 59
Sporen, Bakterien 65, 66
Sporenbildung 151
— endogene bei Schimmelpilzen 266
— exogene bei Schimmelpilzen 267
Sporen-Form 65
Sporengröße 66
— von Saccharomyces cerevisiae 200
— — — ellipsoideus 200
— — — Soya Saito 200
— — — validus 200
— — Saccharomycodes Ludwigii 200
— — Saccharomycopsis capsularis 200
— — Willia anomala 200
Sporenkeimung, erschwerte 73
Sporen der Schimmelpilze 265
Spritessig 370
Sproßmyzel 255
Sproßpilz 14
Sprossung 193
— bei Torula 237
— Hefe 183
Sproßverband bei Mykodermen 235
Sproßverbände bei Torula 237
Stallgeschmack der Milch 328
Staphylococcus 46
Statische Elektrizität 154
Staubhefe 229, 460
Stearinsäure im Hefefett 207
Sterilisation des Wassers durch Ozon 521
— — — — ultraviolettes Licht 521
— diskontinuierliche 493
— durch chemische Mittel 496
— — Dampf 493
— — Filtration 494
— — Hitze 492
— — Licht 495
— kombinierte 502
— physikalische 492
— trockene 493
Sterilisierapparat von Soxleth 515
Stichococcus, N-Bindung 312
Stickoxyd bei der Salpetergärung 412
— Bildung bei der Denitrifikation 296, 298
— -Hämochromogen 511
— Hämoglobin 511
Stickoxydul, Bildung bei der Denitrifikation 296, 298
Stickstoffassimilation durch Bakterioiden 305
Stickstoffbindung 298
Stickstofffreie Reservestoffe der Hefe 192
Stickstoffmehrer 299
Stickstoffzehrer 299
Stoffwechsel der Hefe 218
— der ruhenden Spore 164
Stolonen 276
Strahlen, kurzwellige, Wirkung auf die
— alkoholische Gärung 222
— ultraviolette, Wirkung auf die alkoholische Gärung 222
Strahlenpilze in Butter 330
— — Milch 320
Streptococcus 13, 46
— Billroth 171
— gracilis 21
— hollandicus 329
— Kefir Migula 322
— lactis 319
— — innocuus Löhnis 322
— — Lister 322
— mastitidis Guillebeau 322
— mesenterioides 38
— — bei der Rohrzuckergewinnung 414
Streptococcus mesenterioides bei der Zuckerfabrikation 407
— Opalanitza 408
— pyogenes Rosenbach 322
— Zettnow 408
Streptokokkenfäulnis von Fibrin 282
Strichkulturen 53
Stschikraut 442
Sublimat als Desinfektionsmittel 500
Sulfatreduktion 425
Sulfitzellulose-Fabriksabwasser 533
Sumpferz, Bildung durch Bakterien 437
Sumpfgasgärung 377
Supramaximale Temperatur 151
Suspensor 266
Süssensilage 394
Süßwein 464
Symbiose 306
Symplotrophe Essigsäurebakterien 351
Synechococcus 12
Synthesen 156
System der Bakterien 168

Tabak, Fermentation 395
Taubenmistbeize 422
Tane-Koji 490
Tapej 489
Tatronsäure, Bildung beim Harnsäureabbau 288
Taurotte 384
Tee, schwarzer 399

Teefermentation 399
Teeöl 400
Teilung der Bakterien 45
Temperatureinwirkungen auf Sporenkeimung 151
Temperatur-Kardinalpunkte von Bacillus calfactor 150
— — — Bacterium acetosum 150
— — — — oxydans 150
— — — Influenzabazillus 150
— — — Pseudomonas photogena 150
Temperaturmaximum 149
— bei der Sporenbildung der Hefe 197
— für Torula 238
Temperaturminimum 149
— bei der Sporenbildung der Hefe 197
Temperaturoptimum 149
— für Torula 238
— Sporulation der Hefe 196
Tenazu 370
Teratologische Wuchsformen 24
Termobacterium aceti Zeidler 357
Termobacterium iridescens 463
Tetanustoxin 282
Tetraden 47
Tetrakokken 47
Tetramethylendiamin, Fäulnisabbau 281
Tetrathionsäure 432
Tibi 457
Thallus 261
Theobromin 399
— Wirkung auf Knöllchenbakterien 304
Theophyllin, Wirkung auf Knöllchenbakterien 304
Thermoflora der Milch 319
Thermosflaschen für Säuglingsmilch 514
Thermotolerante Bakterien 150
Thiobacillus denitrificans 159, 296, 432
— thioparus 432
Thiocapsaceae 174
Thiocapsa Winogradsky 175
Thiocystis Winogradsky 175
Thiodiction Winogradsky 175
Thionsäurebakterien 432
Thiopedia Winogradsky 175
Thiopediaceae 175
Thiophysa Hinze 174
— Lauterborn 174
Thiophysa volutans 21, 431
Thiopolycoccus Winogradsky 176
Thiosarcina Winogradsky 175
Thiospira Wislouch 174
Thiospirillum Winogradsky 176
Thiothece Winogradsky 175
Thiothrix 64
Thiothrix anulata 431
— marina 431
— nivea 431
— tenuis 431
— tenuissima 431
— Winogradsky 173
Thiovulum Hinze 174
Torula 14, 255
— im Kefir 238
Torula im Kumiß 238
— — Mazun 238
— Kefir 451
— Kohlenstoffquelle 237
— Ölkörperchen 236
— Sprossung 237
— Sproßverbände 237
— Stickstoffnahrung 237
— Temperaturmaximum 238
— Temperaturoptimum 238
— Zellinhalt 236
Torulaarten, Zellform 236
Torulaceen 236
Torulaspora Lindner 250
Toluol als Desinfektionsmittel 502
Tomaten, Einsäuerung 444
Tonerde 83
Ton, für Filter 521
Tonoplast 41
Tötungswert 497
Tötungszeit: Bacillus asterosporus 152
— — calidus 152
— — cohärens 152
— — Ellenbachensis 152
— — megatherium 152
— — subtilis 152
— — tostus 152
Toxigene Saprophyten 516
Toxophore Gruppe 108
Tragzelle 266
Tränen des Käses 339
Traubenkokken 46
Traubenkugelbakterien 46
Traubenmost, Zusammensetzung 466
Trehalase 98
— in der Hefe 210
Trehalose 98
— Vergärung durch Torula 237
Treiben der Lohbrühe 424
Trifolium Knöllchenbakterien 304
Trimethylamin bei der Fäulnis 282
Trimethylammoniumhydroxyd 282
Trimethylvinylammoniumhydroxyd 282
Trinkflaschen für Säuglinge 515
Trinkwasser, Beschaffenheit 517
— Mykologie 518
Trisaccharasen 89, 97
Tristearin 94
Trockenfischkonserven 510
Trockenmilch 513
Trockensubstanz der Bakterienzelle 75
— Hefepreßsaft 206
Tropfkörper, biologische 530
Tuberkelbazillus 26
Tuberkulinsäure 81
Tuberkulosamin 82
Tuberkulose, Übertragung durch Milch 320
Tuberkulosebakterien 75
Tüpfel bei Schimmelpilzen 265
Tryptasen 89, 90
Tryptophan 103
— Fäulnisabbau 281
Typhus, Übertragung durch Milch 320

Tyrosin 279
— Fäulnisabbau 280
— im Hefepreßsaft 207
Tyrosinase 89, 102

Überoxydation bei der Essigerzeugung 368
Überrotte des Kakaos 398
Überrottung 387
Ultrafilter 495
Ultraviolettes Licht zur Entkeimung 496
Ultraviolette Strahlen, Wirkung 153
— — — auf Bacillus coli 153
— — — — — — tuberculosis 153
— — — — — Bacterium anthracis 153
— — — — — die alkoholische Gärung 222
— — — — — Micrococcus pyogenes aureus 153
— — — — — Pseudomonas pyocyanea 153
Umschlagen des Bieres 462
— — Weines 211, 470
Untergärige Brauerei 229
Unterhefe 180
— Aschengehalt 204
Uracil im Hefeplasma 207
Urease 288, 289
Urobacillus Duclauxii Miquel 21
Urobacillus Pasteurii 288
Urosarcina 287
Urzeugung 3

Valin 279
Vanille-Fermentation 400
Vanillin 400
Vegetationskraft 4
Vegetationszelle 56
Vegetative Hefezelle, Schema 192
Verbrühen des Tabakes 396
Verdauung 1
Vermehrung der Hefezellen 193
— von Mykodermen 234
Verwesung 278
Verzweigung, echte 26, 261
— falsche 26
Vibrio 13
— aquatilis fluorescens 49
— cholerae 148
— fluorescens 43
Vicia, Knöllchenbakterien 304
Virulenz der Knöllchenbakterien 306
Vitalfärbung 28
Vitamine 217
Vorfluter, Pilzflora 524
Vorgärung bei der Käsereifung 335
Volutin 41
— in der Hefe 191

Waid 418
Waidkugeln 419
Wallende Gärung 227
Warmwasserröste 384
Wasserbrot 446
Wasser-Filter aus Asbest 521
— — — Kieselgur 521
— — — Porzellan 521
Wassergehalt der Bakterienzelle 74
— — Hefe 204
Wasserreinigung 520
Wasserrotte 383
Wasserstoff, Bildung durch Amylobacter 309
Wasserstoffakzeptoren 346
Wasserstoffbildung in Diffuseuren 406
Wasserstoffgärung 96, 378
— des Zuckers 373
Wasserstoffionen-Konzentration der Nährsubstrate 147
Wasserstoffperoxyd als Desinfektionsmittel 501
Wasserstoffzahl des Nährbodens für Bacillus coli 147
— — — — — typhi 147
— — — — Bacterium alcaligenes 147
Wasserstoffzahl des Nährbodens für Bacterium anthracis 147
— — — — Micrococcus pyogenes 147
— — — — Streptococcus pyogenes 147
Wattefilter 495
Wecksche Konservenflaschen 504
Weichfäule der Mohrrüben 97
Weiche 420
Wei, lange 328
Wein 464
— herber 464
— Reifung 467
— Schulung 467
Weinbukettschimmel 258
Weinessig 369
Weinessigbakterien 357
Weinkrankheiten 469
Weinsäure als Kohlenstoffquelle für Hefe 217
— für Hefewaschung 238
— Nahrung für Torula 237
— Nährstoff für Mykodermen 235
— Wirkung auf Hefen 225
Weißwein, Gewinnung 467
Weizen, Gehalt an Bakterien 445
Wiener Verfahren 482
Willia anomala Hansen 252
— — in Bier 463
— — Kardinalpunkte der Sporulationstemperatur 198
— — Sporenform 199
— — Sporengröße 200
— Hansen 252
— Saturnus Klöcker 252
— — Sporenform 199
Winterlandrotte 384
Wuchsverbände 48
Wunderblutbazillus 20, 75
Wurstvergiftung 516
Wurzelknöllchen der Erde 307
Würze-Essigbakterien 352

Xanthin 81, 91, 284
— Bildung beim Guaninabbau 289
— im Hefepreßsaft 207
— in der Hefe 206

Xanthosin 284
Xanthinoxydase 284
Xylinumhaut 359
Xylose 104

Ya-urt 448
Yaoërt 448
Yoghurt 448

Zähewerden des Weines 471
Zähmilch 329
Zellbildung, freie 59
Zellform der Torulaarten 236
Zellhaut 36
— der Schimmelpilze 264
— Hefe 188
— von Mycoderma 234
Zellinhalt von Mykodermen 234
— — Torula 236
Zellkern 27
— der Hefe 183
Zellmembran 27
Zellobiose 375, 381
Zellsaftvakuolen 27, 40
— Hefe 191
Zellulase 96, 380
Zellulinkörner 264
Zellulosegärung 374
Zellverschmelzung von Hefesporen 203
Zellwandverdickung bei Schimmelpilzen 264
Zerstreuungsform 335
Zickendwerden des Weines 472
Zideressig 369
Zitronensäure als Kohlenstoffquelle für Hefen 217
— C-Quelle für Denitrifikationsmikroben 296
— Nahrung für Torula 237
— Nährstoff für Mykodermen 235
— Wirkung auf Hefen 225
Zitronensäuregärung 101, 273
Zoogloea 48
— ramigera 526
Zoosporen 266
Zuckersäurebildung 156
Zuckersäuregärung 102
Zweienzymtheorie 96
Zygomyzeten 265
Zygosaccharomyces Barker 250
— Barkeri 188
— Priorianus Klöcker 250
Zygosporenbildung bei Phycomyceten 265
Zygote 266
Zymase 87, 89
— bei der Hefeatmung 219
— in der Hefe 211
Zymogen 86
Zymotische Nahrung der Hefe 215
Zytoplasma 27

Druckfehler-Verzeichnis.

Seite	39,	Zeile	15	von	oben	statt	Ginggerbeer-plant = Gingerbeer-plant
„	64,	„	7	„	„	„	Clamydothrix = Chlamydothrix
„	197,	„	1	„	„	„	Tempertaur = Temperatur
„	201,	letzte	Zeile			„	bekannten = bestimmten
„	214,	Zeile	6	von	unten	„	desselben = derselben
„	219,	„	15	„	oben	„	freimachende = freimachenden
„	233,	„	9	„	unten	„	Platinose = Platinöse
„	254,	„	2	„	„	„	„ihm“ zu streichen
„	272,	„	15	„	oben	statt	Pencillium = Penicillium
„	288,	„	11	„	„	„	Purmine = Purine
„	307,	„	9	„	„	„	denen = der
„	310,	„	3	„	„	„	sphäricum = sphaericum
„	316,	„	9	„	„	„	konstuiert = konstruiert
„	317,	„	3	„	„	„	Kollostral- = Kolostral-
„	317,	„	6	„	„	„	Konnig = Koning
„	362,	„	6	„	„	„	Bildern = Bildnern
„	374,	„	9	„	„	„	Orthybutylicus = Orthobutylicus.

Franz Fuhrmann:

Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie

Mit 33 Abbildungen im Text und 3 Tafeln

V, 88 S. gr. 8° 1909 Rmk. 3.—

Inhalt: Einleitung. — 1. Die mikrophotographische Einrichtung. 2. Die Aufstellung der mikrophotographischen Einrichtung. 3. Die Zentrierung der mikrophotographischen Einrichtung. 4. Lichtquellen. 5. Die Lichtfilter und photographischen Platten. 6. Das Aufnahmeverfahren. 7. Der Negativprozeß. 8. Der Positivprozeß. 9. Vervielfältigungsverfahren für den Tafel- und Buchdruck. 10. Die mikroskopischen Präparate. — Sachregister.

Zentralblatt für die Zuckerindustrie, Nr. 24 vom 13. März 1909: Mit dem vorliegenden Buche bezweckt der Verfasser, dem Mykologen, welcher sich nur ab und zu mit der Mikrophotographie beschäftigt und daher photographisch nicht besonders ausgebildet ist, die wichtigsten Daten und Vorschriften aus der Praxis der Mikrophotographie in möglichst knapper Form zugänglich zu machen. Die Ausführungen und Anleitungen sind sehr klar und verständlich geschrieben, worin sie durch sehr gute Bilder unterstützt werden; sie zeigen den erfahrenen Praktiker. Die Anordnung des Stoffes sowie die Ausstattung des Buches sind vortrefflich. Dadurch, daß der Verfasser möglichst theoretische Erläuterungen umgeht und in dieser Beziehung auf das ausgezeichnete Lehrbuch der Mikrophotographie von Neuhaus verweist, gestaltet er sein Buch zu einem für die Praxis sehr brauchbaren und dabei völlig ausreichenden ...

Vorlesungen über Bakterienenzyme

Mit 9 Abbildungen und 5 graphischen Darstellungen im Text

VII, 136 S. gr. 8° 1907 Rmk 3.50

Inhalt: 1. Vorlesung: Einleitung. 2. Vorl.: Wirkungsweise und Einteilung der Bakterienenzyme. — 3. bis 6. Vorl.: Proteolytische Bakterienenzyme. — 7. Vorl.: Lysine. — 8. Vorl.: Bakterienkoagulasen. — 9. u. 10. Vorl.: Kohlehydrat spaltende Enzyme. — 11. Vorl.: Glukosid und Fett spaltende Enzyme. Oxydasen, Reduktasen. — 12. Vorl.: Gärende Enzyme. — Literatur. — Sachregister.

Die deutsche Zuckerindustrie, 27. September 1907, Nr. 39: ... eine übersichtliche Zusammenfassung, die dem Forscher rasche Kenntnisnahme des tatsächlichen Materials und der Quellenschriften ermöglicht und hauptsächlich die mannigfaltigen lösenden und koagulierenden, die spaltenden, sowie die Oxydation, Reduktion und Vergärungbewirkenden Enzyme behandelt. Die Darstellung und Anordnung des Stoffes ist klar und sachgemäß, die Auswahl des Gebotenen geschickt, die Literatur wird bis in die neueste Zeit hinein berücksichtigt, und genaue Angaben über die benützten Quellen sowie ein gutes Sachregister ermöglichen eine rasche Auffindung der Einzelheiten und einen genügenden Überblick. von Lippmann.

Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen. Von **Emil Chr. Hansen.** Nach seinem Tode herausgegeben von Albert Klöcker, extr. Vorsteher an dem Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen. Mit 95 Abbild. im Text und 1 Porträt. (VIII, 565 S. gr. 8°.) 1911 Rmk 18.—

Inhalt: 1. Untersuchungen über die Organismen der Luft. (2. Abhandl.) 2. Untersuchungen über den Kreislauf der Alkoholgärungspilze. (4. Abhandl.) 3. Andere Untersuchungen über Alkoholgärungspilze. (22. Abhandl.) 4. Untersuchungen über Essigsäurebakterien. (3. Abhandl.) 5. Abhandlungen über die Methodik der Reinzucht. (2. Abhandl.) 6. Verzeichnis der von Emil Chr. Hansen veröffentlichten Arbeiten.

Die Bakterien. Naturhistorische Grundlage für das bakteriologische Studium. Von **Johs. Schmidt** und **Fr. Weis.** Mit einem Vorwort von Prof. Dr. E. Chr. Hansen, Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen. Unter Mitwirkung der Verfasser aus dem Dänischen übersetzt von Morten-Porsild. Mit 205 Abbildungen im Text. VIII, 416 S. gr. 8° 1902 Rmk 7.—

Botanische Zeitung, Nr. 4 vom 16. Februar 1912: ... Neben den anderen wird es aber als eine kurze, kritische und genaue Darstellung der naturwissenschaftlichen Grundlagen der Bakteriologie seinen Platz behaupten. Die Disposition ist klar, die Darstellung gut. Die Morphologie und Entwicklungsgeschichte sowie der spezielle Teil, die Beschreibung der wichtigsten Bakterien wird von Johs. Schmidt behandelt. Die Physiologie und das Kapitel über Verbreitung, Vorkommen und Bedeutung der Bakterien stammen aus der Feder von Fr. Weis. ... Das Buch muß als eine empfehlenswerte, kurze und klare Einleitung in die Grundbegriffe der Bakteriologie bezeichnet werden. Behrens.

Die Hauptlinien des natürlichen Bakteriensystems nebst einer Übersicht der Gärungsphänomene. Von Dr. **Orla-Jensen,** Prof. am dänischen Polytechnikum Kopenhagen. Mit 1 Abbildung. (Abdr. aus dem „Centralblatt für Bakteriologie". 2. Abt., Bd. 22.) II, 42 S. gr. 8° 1909 Rmk 1.—

Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Von Dr. **Orla-Jensen,** Professor der Gärungsphysiologie an der Kgl. Hochschule zu Kopenhagen, früher Vorstand der schweizerischen milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt. Mit 60 Abbildungen im Text. VIII, 182 S. gr. 8° 1913 Rmk 5.—, geb. 6.50

Inhalt: Allgemeiner Teil. 1. Mikroorganismen und Gärprozesse. 2. Bakterien. 3. Hefe- und Schimmelpilze. — Spezieller Teil. 1. Reinigung und Milchgewinnung. 2. Normale und anormale Mikroflora der Milch. 3. Konservierung der Milch und ihre Behandlung für den direkten Konsum. 4. Anwendung der Milchsäuregärung in der Milchwirtschaft. 5. Normale und anormale Mikroflora der Butter. 6. Reifungsprozeß der verschiedenen Käsesorten. 7. Käsefehler. 8. Beurteilung der Milch. — Sachregister.

Allgemeine Milch-Zeitung (Hamburg): Das Werk ist in erster Linie für Molkereifachleute geschrieben und leistet hier auch weitgehenden Ansprüchen völlig Genüge, da es Beispiele aus der Praxis heranzieht, was es für die nicht bakteriologisch geschulten Praktiker besonders wertvoll macht.

Es erläutert in einfacher, klarer, jedermann verständlicher Sprache die gesamten bakteriologischen Verhältnisse in der Milchwirtschaft, so daß es allen Interessenten, nicht nur den Praktikern, sondern auch den Chemikern und Hygienikern warm empfohlen werden kann. Kein Fachmann wird das Buch unbefriedigt aus der Hand legen, da es für jedermann Anregendes bringt.

Spezielle Systematik der Bakterien. Von Dr. **W. Migula,** ao. Prof. a. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe. („System der Bakterien". Bd. II.) Mit 35 Abbild. im Text u. 18 Tafeln. X, 1068 S. gr. 8° 1900 Rmk 30.—

Bot.
Thalloph.
F.

202109

Author Fuhrmann, Franz

Title Einführung in die Grundlagen der technischen Mykologie.

University of Toronto
Library

DO NOT
REMOVE
THE
CARD
FROM
THIS
POCKET

Acme Library Card Pocket
Under Pat. "Ref. Index File"
Made by LIBRARY BUREAU